АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XVII. ВЫП. 5

СЕНТЯБРЬ—ОКТЯБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1948

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор академик Б. Л. Исаченко

Зам. редактора чл.-корр. Академии Наук СССР
А. А. Имшенецкий

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:
А. Ф. Войткевич, Я. И. Раутенштейн, В. Л. Рыжков,
Ф. М. Чистяков, В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2,
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакции журнала «Микробиология»

ОТ ЦЕНТРАЛЬНОГО КОМИТЕТА ВСЕСОЮЗНОЙ КОММУНИСТИЧЕСКОЙ ПАРТИИ (большевиков) И СОВЕТА МИНИСТРОВ СОЮЗА ССР

Центральный Комитет Всесоюзной Коммунистической партии (большевиков) и Совет Министров Союза ССР с великим прискорбием извещают партию и всех трудящихся Советского Союза, что 31 августа в 3 часа 55 минут дня после тяжелой болезни скончался выдающийся деятель нашей партии и Советского государства, член Политбюро ЦК ВКП(б), секретарь ЦК ВКП(б), депутат Верховного Совета СССР, генерал-полковник товарищ АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ЖДАНОВ.

Смерть товарища А. А. ЖДАНОВА, верного сына партии Ленина — Сталина, посвятившего всю свою жизнь служению великому делу коммунизма, является тягчайшей утратой для партии и всего советского народа.

В лице товарища ЖДАНОВА партия лишилась выдающегося марксистского теоретика, талантливейшего пропагандиста великих идей Ленина — Сталина, одного из виднейших строителей партии и Советского государства.

Верный ученик и соратник великого Сталина товарищ ЖДАНОВ своей кипучей деятельностью на благо советского отечества, своей беззаветной преданностью делу партии Ленина — Сталина снискал горячую любовь партии и всех трудящихся нашей Родины.

Жизнь товарища АНДРЕЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА ЖДАНОВА, отдавшего всю свою пламенную энергию делу строительства коммунизма, будет служить примером для трудящихся нашей великой Советской Родины.

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ КОМИТЕТ
ВСЕСОЮЗНОЙ КОММУНИСТИЧЕСКОЙ
ПАРТИИ (большевиков)

СОВЕТ
МИНИСТРОВ
СОЮЗА ССР

АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ЖДАНОВ

31 августа после тяжелой болезни скончался один из выдающихся строителей и деятелей коммунистической партии и Советского государства, член Политбюро ЦК ВКП(б), секретарь ЦК ВКП(б), депутат Верховного Совета СССР, генерал-полковник товарищ Андрей Александрович ЖДАНОВ.

Андрей Александрович ЖДАНОВ родился 26 (14) февраля 1896 года в гор. Мариуполе в семье инспектора народных училищ. Шестнадцатилетним юношей (в 1912 году) А. А. ЖДАНОВ после переезда его отца в Тверь вступает в революционное движение, принимает участие в социал-демократических кружках учащейся молодежи гор. Твери (ныне гор. Калинина).

В ряды большевистской партии А. А. ЖДАНОВ вступает в 1915 году. Он ведет активную партийную работу в рабочем районе гор. Твери. Товарищ ЖДАНОВ вскоре становится партийным работником. В период первой мировой войны, будучи мобилизованным в армию, он ведет большевистскую пропаганду среди солдат, принимает участие в подготовке и проведении Великой Октябрьской социалистической революции на Урале. В годы гражданской войны товарищ ЖДАНОВ занимается политическим просвещением в частях Красной Армии, ведет партийную и советскую работу на Урале и в Твери. С 1922 года тов. ЖДАНОВ председатель Тверского губисполкома. В 1924—1934 гг. он на руководящей партийной работе в Горьковском крае: секретарь Горьковского губкома, секретарь Горьковского крайкома ВКП(б).

На XIV съезде ВКП(б) А. А. ЖДАНОВ избирается кандидатом в члены ЦК ВКП(б), на XVI съезде членом ЦК ВКП(б), а после XVII съезда он избирается секретарем ЦК ВКП(б), кандидатом в члены Политбюро ЦК ВКП(б).

Товарищ ЖДАНОВ ведет большую партийную и государственную работу. Он уделяет много внимания вопросам идеологии и марксистско-ленинской теории. Его выступление на первом съезде Союза Советских писателей наметило важнейшие задачи в развитии советской литературы.

В декабре 1934 года, после злодейского убийства С. М. Кирова, партия посылает товарища А. А. ЖДАНОВА на работу в ленинградскую партийную организацию, которую он возглавляет в период с 1934 по 1944 год включительно.

Выполняя волю партии, А. А. ЖДАНОВ со свойственной ему большевистской страстностью воодушевляет и мобилизует ленинградскую партийную организацию на разгром и выкорчевывание троцкистско-зиновьевских двурушников и предателей, еще теснее сплачивает ленинградских большевиков вокруг ЦК ВКП(б) и товарища Сталина.

Накануне XVIII съезда ЦК ВКП(б) поручает тов. А. А. ЖДАНОВУ руководство агитационно-пропагандистской работой партии. Он выступает также на XVIII съезде партии с докладом по вопросам партийного строительства. Любое поручение партии А. А. ЖДАНОВ выполнял, отдаваясь ему всей душой. После XVIII съезда партии т. ЖДАНОВ избирается членом Политбюро ЦК ВКП(б).

В годы Великой Отечественной войны партия и правительство поручают товарищу А. А. ЖДАНОВУ организацию дела обороны Ленинграда. Осуществляя указания ЦК ВКП(б) и товарища Сталина, ленинградские большевики, возглавляемые товарищем ЖДАНОВЫМ, явились душой героической обороны города Ленина. За работу на Ленинградском фронте тов. ЖДАНОВУ присваивается сначала звание генерал-лейтенанта, а потом звание генерал-полковника.

За свою выдающуюся партийную и военную работу т. ЖДАНОВ был награжден двумя орденами Ленина, орденом «Красное Знамя», орденом Суворова I степени, орденом Кутузова I степени, орденом Трудового Красного Знамени.

После победы в Великой Отечественной войне, когда партия и народ перешли к мирному строительству, видное место в жизни партии и страны заняли вопросы идеологической работы. Являясь выдающимся марксистским теоретиком и талантливейшим пропагандистом великих идей Ленина — Сталина, товарищ ЖДАНОВ выступает с рядом блестящих докладов по вопросам литературы, искусства, философии, по вопросам международного положения.

А. А. ЖДАНОВ находился в первых рядах руководящих деятелей международного рабочего движения. Его выступления широко известны трудящимся всех стран.

Верный ученик и соратник великого Сталина товарищ ЖДАНОВ с пламенной энергией боролся за дело коммунизма, никогда не щадил своих сил и здоровья. Его кипучая жизнь и деятельность — пример самоотверженного служения партии и народу. Горячую любовь партии и всех трудящихся он заслужил своей беззаветной преданностью великому делу Ленина — Сталина, своей глубокой принципиальностью, не допускающей какое-либо отклонение от генеральной линии партии.

Прощай, наш дорогой друг и боевой товарищ!

А. АНДРЕЕВ
Л. БЕРИЯ
Н. БУЛГАНИН
Н. ВОЗНЕСЕНСКИЙ
К. ВОРОШИЛОВ
Л. КАГАНОВИЧ
А. КОСЫГИН
А. КУЗНЕЦОВ
Г. МАЛЕНКОВ
А. МИКОЯН
В. МОЛОТОВ
П. ПОНОМАРЕНКО
Г. ПОПОВ
И. СТАЛИН
М. СУСЛОВ
Н. ХРУЩЕВ
Н. ШВЕРНИК
М. ШКИРЯТОВ

ЦЕНТРАЛЬНОМУ КОМИТЕТУ ВСЕСОЮЗНОЙ КОММУНИСТИЧЕСКОЙ ПАРТИИ (большевиков)

Президиум Академии Наук Союза Советских Социалистических Республик выражает глубочайшую скорбь по поводу безвременной смерти выдающегося деятеля партии и Советского государства, крупнейшего марксистского теоретика, талантливейшего пропагандиста великих идей Ленина — Сталина, верного ученика и ближайшего соратника великого Сталина,— Андрея Александровича Жданова.

Помимо большой государственной и политической деятельности Андрея Александровича Жданова, его блестящие, большого научного обобщения доклады по вопросам философии, литературы и искусства вошли золотой страницей в историю нашей советской научной мысли и будут служить для наших ученых повседневным руководством в применении ленинско-сталинского анализа в их научной деятельности.

Нет больше среди нас дорогого Андрея Александровича Жданова, пламенного борца за коммунизм, но память о нем всегда будет жить среди нас и вдохновлять на завершение построения коммунистического общества в нашей стране, во имя чего жил и боролся Андрей Александрович Жданов.

ПРЕЗИДИУМ АКАДЕМИИ НАУК СССР

ЗА ПЕРЕДОВУЮ МИЧУРИНСКУЮ БИОЛОГИЧЕСКУЮ НАУКУ

Сессия Академии сельскохозяйственных наук им. В. И. Ленина (31 июля — 7 августа 1948 г.) явилась одним из крупнейших событий в идеологической жизни нашей страны и знаменует важнейшую историческую веху в развитии биологической науки. Итоги этой сессии имеют решающее значение для направления дальнейшей работы всех отраслей биологических наук, в том числе и микробиологии.

Биология, как наука об основных законах возникновения и развития живой природы, является одной из важнейших составных частей естественно-научной основы марксистско-ленинского мировоззрения. Поэтому на всем протяжении своего развития она была ареной острой идеологической борьбы между двумя непримиримыми философскими лагерями — между материализмом и идеализмом.

Биология служит теоретической основой для сельского хозяйства и медицины. «Чем глубже биологическая наука вскрывает закономерности жизни и развития живых тел, тем действеннее агрономическая наука» (Т. Д. Лысенко. О положении в биологической науке. Стенограф. отчет сессии ВАСХНИЛ, стр. 7, ОГИЗ — Сельхозгиз, 1948).

Борьба между материализмом и идеализмом в биологии является поэтому одновременно и борьбой за возможность и пути сознательной, планомерной переделки живой природы. Этими обстоятельствами объясняется тот исключительный интерес, который вызвали итоги сессии ВАСХНИЛ у научной общественности, практиков сельского хозяйства и медицины и всего советского народа.

Т. Д. Лысенко в своем докладе, одобренном Центральным Комитетом ВКП(б), глубоко вскрыл и наглядно показал, что в биологической науке существуют два диаметрально противоположных направления: прогрессивное, материалистическое — мичуринское и реакционное, идеалистическое — вейсманистское (менделевско-моргановское).

Сессия ВАСХНИЛ со всей неопровержимостью показала, что менделевско-морганoвское направление в биологии является антинаучным, антинародным и что оно тормозило дальнейшее развитие биологической науки и наносило большой вред практике социалистического хозяйства. В то же время сессия убедительно доказала, что мичуринское направление является самым передовым направлением в биологии, двигающим вперед теорию эволюции, вооружающим практиков действенными научными методами улучшения имеющихся и создания новых пород животных, новых сортов растений, новых полезных культур микроорганизмов.

Учение И. В. Мичурина является ярким примером успешного применения в науке, в частности в биологии, методов материалистической диалектики.

Дарвин в своем труде «Происхождение видов» дал научное, материалистическое в своей основе, объяснение возникновения и развития живой природы. Классики марксизма высоко ценили материалистические элементы в учении Дарвина, одновременно подвергая критике ошибочные и слабые стороны его теории (мальтузианство и др.). Революционная сторона учения Дарвина — идея развития, идея неизбежного изменения органического мира вызвала злостные выпады со стороны реакционных зарубежных ученых типа Вейсмана, Моргана,

Де-Фриза, Бетсона, Лотси и др. Реакционная теория Вейсмана — Моргана стала господствующей среди буржуазных ученых и нашла, к сожалению, сторонников среди части советских биологов (Шмальгаузен, Дубинин, Жебрак, Завадовский и др.), которые, раболепствуя перед реакционными биологами, пропагандировали их учения и руководствовались ими в своей работе.

Наша страна гордится тем, что выдающиеся русские ученые Ковалевские В. и А., Сеченов, Мечников, Павлов, Северцов, Тимирязев, Вильямс и др. в своих трудах развивали и отстаивали дарвинизм от ревизии со стороны ряда зарубежных биологов-идеалистов.

И. В. Мичурин, основываясь на методах материалистической диалектики открыл и овладел законами сознательного управления развитием организмов.

Величайшей заслугой И. В. Мичурина является не только то, что он оставил нам более 300 новых сортов плодо-ягодных культур, но то, что он оставил свое учение по управлению природой живых организмов.

На основе своих работ И. В. Мичурин пришел к следующему важнейшему положению: «при вмешательстве человека является возможным вынудить каждую форму животного или растения более быстро изменяться и притом в сторону желательную человеку. Для человека открывается обширное поле самой полезной для него деятельности». (И. В. Мичурин. Соч., т. IV, стр. 72). Поэтому мичуринское направление в биологии представляет собою качественно новую, высшую ступень в развитии дарвинизма. Вейсманисты-морганисты, борясь с дарвиновской теорией развития, отрицают возможность наследования приобретенных в процессе жизни индивидуальных отличий. Живой организм по их концепции состоит из двух принципиально различных веществ: «наследственного вещества», или идиоплазмы, и «питательного вещества», или трофоплазмы. Наследственное вещество, заключенное в хромосомах и генах, совершенно автономно от остального тела, или сомы, и от условий его жизни. Изменения «наследственного вещества», так называемые «мутации», не имеют, по их мнению, определенного направления,— они носят случайный характер, так, как будто бы нет связи между качеством «мутации» и определенными изменениями условий внешней среды. «Это своеобразная концепция непознаваемости, имя ей идеализм в биологии» — справедливо указывает в своем докладе Т. Д. Лысенко (Стенограф. отчет сессии ВАСХНИЛ, стр. 20).

Мичуринское учение фактами доказывает, что наследование свойств, приобретенных живыми организмами в процессе их развития, возможно и необходимо.

Мичуринское учение отрицает существование в организме особого от тела «наследственного вещества». Свойствами наследственности и наследуемых изменений обладает организм в целом.

Изменение наследственности, приобретение новых свойств, их усиление и накопление в последующих поколениях всегда обусловливается условиями жизни организмов. «Наследственность есть свойство живого тела требовать определенных условий для своего развития и определенно реагировать на те или иные условия» (Лысенко. Стенограф. отчет сессии ВАСХНИЛ, стр. 28).

И. В. Мичурин рассматривает организм в неразрывной связи с внешней средой. В своих работах он наглядно доказал ту огромную роль, которую играет внешняя среда в формировании организмов. «Только совместным действием наследственной передачи свойств предков и влиянием факторов внешней среды создались и создаются в дальнейшем все формы живых организмов. Против этой бесспорной истины нельзя возражать»,— писал Мичурин (Соч., т. 1, стр. 483).

Менделизм-морганизм, построенный лишь на случайностях, обрекает практиков на бесплодное ожидание и на основе такой «науки» невозможно научное предвидение, невозможна планомерная переделка природы.

Мичуринское направление в биологии, установившее закономерности, определяющие наследственную изменчивость организмов, показало, какими путями можно ускорить получение нужных человеку растений и животных. Сила мичуринского учения в его тесной связи с задачами и практикой социалистического строительства, поэтому оно открывает широчайшие перспективы перед всеми отраслями биологической науки.

Микробиология, как и все остальные биологические науки, также всегда была ареной острой борьбы между двумя непримиримыми направлениями в биологии: между материализмом и идеализмом. С первых же дней возникновения микробиологии как самостоятельной науки разгорелась борьба по важнейшему вопросу в биологии — по вопросу изменчивости микроорганизмов. Общий поход реакционных буржуазных ученых против самого ценного в дарвинизме — учения о развитии живой природы — не мог не коснуться и микробиологии.

Вредоносное, тлетворное влияние вейсманизма-морганизма все более и более проникало в микробиологию. Борьба против дарвинизма, против теории эволюции велась буржуазными микробиологами с разных позиций, но при этом постоянно преследовалась одна и та же определенная цель, а именно опровергнуть идею развития.

Микробиология располагает большим фактическим материалом, который наглядно демонстрирует, что морфологические, культуральные, физиологические, антигенные и другие свойства микроорганизмов, их патогенность и т. д. могут значительно изменяться под влиянием внешней среды. Казалось бы, что идеи эволюции должны были восторжествовать в борьбе со сторонниками постоянства микроорганизмов. Но на смену одним опровергнутым жизнью антиэволюционным теориям возникали другие. Нельзя здесь не упомянуть о так называемой теории циклогении Лениса, Эндерлейна, Гедли и других буржуазных микробиологов. Циклогенисты все разнообразие морфологических и физиологических изменений, возникающих у микроорганизмов под влиянием разнообразных внешних воздействий, сводят к изменениям, связанным лишь с определенной стадией в цикле развития. В конечном итоге обязателен, по их теории, возврат к исходной форме. Таким образом, они полностью стоят на позициях неизменяемости микробов. Эти зарубежные антиэволюционные концепции были некритически подхвачены некоторыми нашими учеными, и, несомненно, большой заслугой ряда советских ученых (Имшенецкий, Красильников, Кудрявцев и др.) является то, что они на большом фактическом материале доказали ненаучность и несостоятельность теории циклогении.

Не менее острая борьба протекает в микробиологии по коренному вопросу борьбы в биологии, а именно по вопросу о том, могут ли микроорганизмы изменяться соответственно изменившимся условиям жизни и наследуются ли ими признаки и свойства, приобретенные при этих изменившихся условиях.

Богатый фактический материал, накопившийся в разных отраслях микробиологии, подтверждает то положение, что микроорганизмы в ряде случаев изменяются соответственно изменившейся внешней среды и что эти изменения наследственно передаются последующим поколениям.

Так, например, известно, что некоторые бактерии, не сбраживающие крахмал, образуют амилазу, когда они выращиваются на средах с крахмалом. Путем длительного культивирования кишечной палочки на средах с сахарозой можно получить культуры, сбраживающие этот

углевод, а при выращивании культур, не сбраживающих лактозу, на средах с лактозой — культуры, сбраживающие лактозу.

Путем выращивания дрожжей, не сбраживающих мальтозу, на среде с этим углеводом Кудрявцев получил культуру дрожжей, которая приобрела способность сбраживать мальтозу. Имеются данные о приспособлении микроорганизмов к высоким температурам при культивировании их в соответствующих условиях (Имшенецкий, Логинова, Мишустин и др.).

Методом последовательных пересевов азотобактера на средах с постепенным увеличением источника связанного азота, Рубенчик получил культуру этого микроорганизма, способную усваивать сравнительно высокие концентрации азотистых соединений. Количество подобных примеров, доказывающих приспособительную изменчивость микроорганизмов, можно значительно увеличить.

Широко известно, что микроорганизмы могут легко приспособиться к сравнительно высоким концентрациям антисептиков, сульфамидных препаратов, антибиотических веществ и т. д. Приспособительные изменения безусловно сыграли основную роль в эволюции микроорганизмов. Сторонники вейсманизма-морганизма все эти приспособления микроорганизмов к новым условиям жизни обычно бездоказательно относят к случайным «мутациям», закрепляемым отбором, не задумываясь над тем, что наследование приобретенных признаков есть закон живой природы, без которого вообще невозможно объяснить эволюцию организмов. Пропагандой вейсманизма с этих позиций у нас занимались Рыжков и другие. Несмотря на то, что вопрос о наличии или отсутствии ядра у бактерии является до сих пор спорным и неразрешенным, многие буржуазные ученые приложили не мало усилий к тому, чтобы полностью перенести реакционное менделевско-морганов ское «учение» в микробиологию (Бадиан, Линдегрен и др.).

Вопрос, конечно, не в споре о том, имеется ли у бактерии настоящее оформленное ядро или ядерное вещество расположено диффузно. Сущность вопроса в том, что́ лежит в основе наследственности: имеется ли у бактерии особое «наследственное вещество» в виде хромосом или отдельных генов, или наследственное основание принадлежит всей клетке в целом?

Для большинства советских микробиологов ответ на этот вопрос вполне ясен — наследственное основание принадлежит всей клетке в целом. К сожалению, у нас имеются отдельные ученые (Пешков, Маневич), которые по этому вопросу разделяют точку зрения реакционных буржуазных ученых и пропагандируют их антинаучные концепции.

М. А. Пешков в своей работе «Полиэнергидные стадии развития бактерий в связи с изменениями их ядерного аппарата» (Труды Ин-та цитологии, гистологии и эмбриологии АН СССР, т. 1, вып. 2, 1948) пишет: «существование хорошо выраженных родов и даже видов у бактерий, как патогенных, так и сапрофитных, говорит за существование у этих организмов аппарата, регулирующего и обеспечивающего передачу наследственных свойств и не уступающего таковому клеток, снабженных хромосомными ядрами» (стр. 49). В этой же работе Пешков не только старается доказать «приложимость» к бактериям общих положений цитогенетики, но ратует за дальнейшие экспериментальные работы в направлении изучения их генного аппарата.

Э. П. Маневич в обзорной статье о «наследственности аскомицетовой плесени Neurospora crassa» (Успехи современной биологии, т. XXII, вып. 2, 1946) также пропагандирует менделевско-морганов ские антинаучные концепции. Автор этой статьи берет на себя смелость безаппеляционно заявить: «все эти результаты совершенно бесспорно говорят о том, что синтез жизненно необходимых химических компонентов живо-

го вещества находится под генным контролем» (стр. 217).

Мы, конечно, не против всестороннего изучения цитологии микроорганизмов. Наоборот, мы считаем, что работы в этой области нужны. Мы против протаскивания в микробиологию антинаучных, антиэволюционных, полностью обанкротившихся положений вейсманизма-морганизма.

Вейсманистско-морга новское направление показало свою полную зависимость от зарубежной реакционной идеалистической философии.

Сессия ВАСХНИЛ показала полное торжество передового мичуринского направления над реакционным менделизмом-морганизмом. В трудах сессии наша наука получила новую могучую опору для своего развития.

Перед всеми микробиологами нашей страны сессия поставила ответственную задачу: коренным образом перестроить всю свою работу с тем, чтобы занять ведущее место в борьбе с буржуазными реакционными идеалистическими направлениями в биологии, в частности и в микробиологии, против низкопоклонства и раболепия перед зарубежными учеными, за дальнейшее развитие мичуринского учения.

Мы обязаны не только полностью овладеть мичуринским учением, но углублять и развивать это учение с тем, чтобы научиться изменять природу микроорганизмов так, как это нужно для конкретных целей народного хозяйства.

В большинстве руководств и учебников по общей и частной микробиологии вопросы изменчивости и наследственности у микроорганизмов излагаются не с позиций передовой мичуринской биологической науки. Поэтому неотложной задачей является издание новых высококачественных учебников.

Мичуринское направление в биологии получило свое развитие благодаря постоянной заботе и помощи Ленина и Сталина.

Всеми своими лучшими достижениями наша наука обязана великому Сталину.

Для советского ученого нет более высокой чести, чем быть в первых рядах в борьбе за передовую науку, в борьбе за коммунизм.

Я. Раутенштейн

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ФАКУЛЬТАТИВНО-АЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ, ВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ СУЛЬФАТЫ

Л. Д. Штурм

Бактерии, восстанавливающие сульфаты, впервые описаны Брусиловским и Зелинским в 1892 г. [1]. В 1893 г., в связи с проблемой образования сероводорода в Черном море Зелинский [2] исследовал более подробно процесс восстановления бактериями сульфатов и других менее окисленных соединений серы. Он показал, что бактерии восстанавливают различные неорганические соединения серы до сероводорода на средах, не содержащих белковых веществ. Несмотря на то, что идея о возможности восстановления сульфатов биохимическим путем — микроорганизмами — разделялась многими учеными уже в середине XIX в., работа Зелинского вызвала возражения и не получила дальнейшего развития.

Два года спустя голландский ученый Beijerinck [11] опубликовал исследование об облигатно-анаэробном микроорганизме Spirillum desulfuricans, способном энергично восстанавливать сульфаты. С тех пор, и по настоящее время, в литературе прочно утвердился взгляд, что восстановление сульфатов в природе осуществляется небольшой группой близкородственных микроорганизмов, являющихся облигатными анаэробами. Правда, на протяжении этого времени было опубликовано несколько работ, в которых описывались факультативно-аэробные сульфатвосстанавливающие бактерии [6, 12 и др.], но эти работы настолько неполны, что не дают оснований для разрешения вопроса о способности факультативно-аэробных бактерий восстанавливать сульфаты.

Большое значение в изучении проблемы образования сероводорода в Черном море имели работы Исаченко [4, 13]. Они дали экспериментальное подтверждение гипотезы образования сероводорода в Черном море биохимическим путем в результате восстановления сульфатов микроорганизмами. Его фундаментальные исследования морей, соленых озер и лечебных грязей указали на широкое распространение в илах бактерий, энергично восстанавливающих сульфаты до сероводорода. Выделенные формы оказались облигатными анаэробами и являлись сходными с микроорганизмом, описанным van Delden,— Microspira aestuarii.

Вопрос об образовании сероводорода факультативно-аэробными бактериями оставался открытым. В 1947 г. Крисс[1] передал нам для исследований смешанную культуру бактерий, восстанавливающих сульфаты, полученную им из ила Черного моря с глубины 1705 м в 1946 г. Из нее были выделены два микроорганизма, способные восстанавливать сульфаты в анаэробных условиях и развиваться в аэробных условиях на обычных мясо-пептонных средах в отсутствии сульфатов. Таким образом, исследованные микроорганизмы являлись сходными с дени-

[1] Пользуюсь случаем выразить глубокую благодарность А. Е. Крисс за предоставленный для исследования интересный материал.

трификаторами по своей способности развиваться в аэробных условиях и вызывать процесс восстановления в анаэробных условиях.

Как видно из нижеследующего, оба микроорганизма относятся к роду Pseudomonas Migula; они различаются между собой некоторыми культуральными и морфологическими признаками и описываются как представители нового вида Pseudomonas Zelinskii n. sp. Видовое название дается нами в честь Зелинского — первого исследователя процесса восстановления сульфатов под влиянием бактерий.

Выделение чистых культур

Методика

Для выделения и изучения чистых культур факультативно-аэробных бактерий, восстанавливающих сульфаты, употреблялись мясо-пептонные и другие среды, обычно применяющиеся для характеристики микроорганизмов с диагностической целью. Опыты по усвоению сахаров в аэробных условиях проводились на среде Красильникова [5]. Для изучения процесса восстановления сульфатов мы пользовались жидкими и плотными средами Пельш (среда I) и Таусон (среда II), введя в них некоторые изменения [8, 9]. Кроме того, нами была составлена среда, названная «двойной средой». Она приготовлялась следующим образом: в пробирку с косым МПА прибавляли 0,5 мл жидкой среды II с таким расчетом, чтобы верхняя часть косого агара оставалась непокрытой. В этих условиях культура получала возможность одновременно развиваться на поверхности агара и в жидкой среде с сульфатами. Назначение этой среды указано ниже. Температура культивирования 34—35°.

Исходным материалом для выделения чистых культур являлась смешанная культура бактерий, восстанавливающих сульфаты на среде Baars [10]. Она была получена заражением среды суспензией ила в пятом разведении [2]. Этой культурой была заражена жидкая среда I. Из культуры на среде I был сделан посев на косой агар МПА. Для этого 0,3 мл культуры вносили в нижнюю часть пробирки, не касаясь поверхности агара. На следующие сутки у поверхности инокулята появился жирный блестящий рост в виде налета грязнорозового цвета, постепенно распространяющийся вверх по агару (инокулят сохранял черный цвет). Далее петлю налета вносили в стерильную воду для получения негустой, равномерной суспензии; петлей суспензии заражали обычный МПА или МПА с добавлением сульфатов и следов соли Мора в чашках Петри (3 г Na_2SO_4 на 1 л; посев мазком). Прибавление Na_2SO_4 имело целью выяснить, возможно ли восстановление сульфатов в этих условиях в случае совместного роста Vibrio desulfuricans и какого-либо аэробного микроорганизма, или под влиянием факультативно-аэробных бактерий, восстанавливающих сульфаты [3]. В результате последующих разливок на МПА с сульфатами и без сульфатов были получены чистые культуры двух микроорганизмов, описание которых приводится ниже: Pseudomonas Zelinskii n. sp.— основная форма и Ps. Zelinskii n. sp.— штамм А.

Культуральные признаки Ps. Zelinskii n. sp.

Аэробные условия

МПА — колонии круглые, гладкие, блестящие, слизистые, грязнорозового цвета (рис. 1). Молодые колонии слабо флуоресцируют голубо-

[2] Для получения суспензии 1 г ила Черного моря с глубины 1 705 м вносили в 9 мл стерильной воды; 1 мл суспензии первого разведения — в 9 мл воды и т. д.

[3] За все время работы восстановления сульфатов в этих условиях не наблюдалось.

ватым цветом в проходящем свете. Штрих. Рост быстрый, слизистый, блестящий, непрозрачный, слегка выпуклый, край гладкий или волнистый, слабогофрированный, цвет грязнорозовый, на 2—3-е сутки в среде появляется растворимый желтый пигмент, переходящий в старых культурах в красноватобурый; рост по штриху с возрастом становится стекловидным.

Рис. 1. Ps. Zelinskii n. sp. МПА. Колонии и штрих. $\times\frac{3}{1}$,5

МПБ — пленка нежная, легко опадающая (в первые сутки роста), далее — слизистая бледного грязнорозового цвета. Муть. Осадок, поднимающийся в виде пряди при встряхивании. Растворимый желтый пигмент образуется на 3 сутки. Постепенно бульон становится бурого цвета, слизистым, приобретая консистенцию глицерина. Сероводород из белка не образует.

МПЖ — медленное разжижение. Молоко не свертывает. Лакмус быстро обесцвечивает, слабое щелочеобразование. Пептонизация.

Картофель — складчатый выпуклый, блестящий налет кирпичного цвета. Побурение картофеля.

Крахмал не гидролизует.

Нитраты не восстанавливает.

Сахара. Слабое развитие на глюкозе, галактозе и левулезе; отсутствие роста на сахарозе, мальтозе и лактозе.

Длительное культивирование в аэробных условиях и частые пересевы приводят к вырождению культуры: к потере или ослаблению способности образовать пигмент и к ослаблению жизнеспособности.

Анаэробные условия

Синтетические плотные среды (I и II). Колонии мелкие, круглые, угольночерные. МПА — рост крайне слабый. МПБ — то же.

Культуральные признаки Ps. Zelinskii n. sp., штамм А

Аэробные условия

МПА — молодые колонии, круглые, гладкие, блестящие, слегка выпуклые, почти бесцветные, непрозрачные; флуоресцируют голубоватороозовым цветом. Позднее появляются выросты, придающие колониям форму звезд или лапчатую форму (рис. 2). Рост по штриху быстрый, слизистый, непрозрачный, с едва заметным грязноватороозовым оттенком, сначала непрозрачный, затем стекловидный. Край штриха волнистый с бугристыми или нитевидными выростами, оканчивающимися булавовидными утолщениями (рис. 3). Растворимый желтый пигмент, переходящий в бурый.

МПБ — рост быстрый. Ирризирующая слизистая пленка, слегка поднимающаяся по стенкам пробирки. Муть, осадок. Растворимый желтый пигмент, переходящий позднее в светлобурый, на 2—3-и сутки. Сероводород из белка не образует.

МПЖ — разжижает.

Молоко не свертывает, лакмус медленно обесцвечивает. Слабое щелочеобразование. Пептонизация.

Крахмал. Рост едва заметный. Крахмал гидролизует.

Нитраты не восстанавливает.

Рис. 2. Ps. Zelinskii n. sp. штамм А. МПА. Колонии. × 3,5

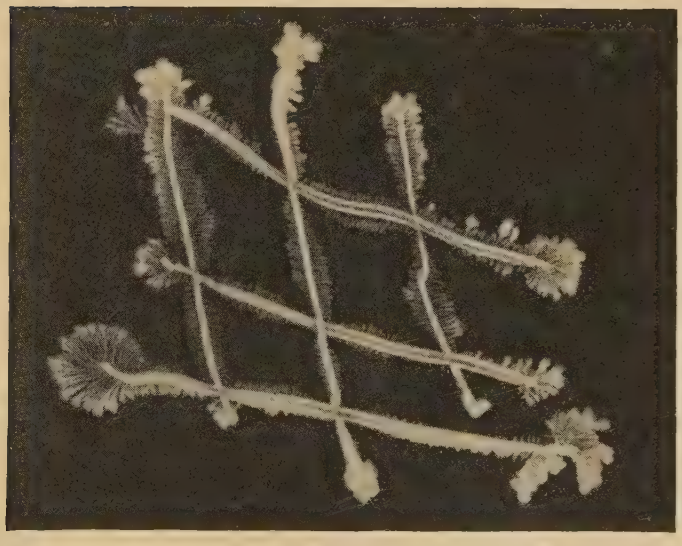

Рис. 3. Ps. Zelinskii n. sp. штамм А. МПА.
Штрих на пластинке агара × 3,5

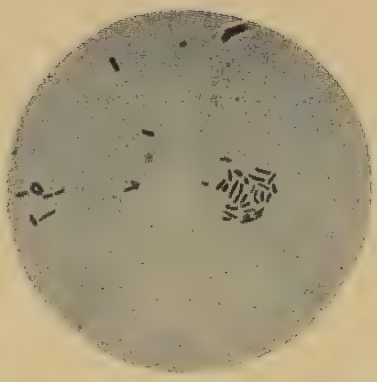

Рис. 4. Ps. Zelinskli n. sp. МПА. Суточная культура. × 800

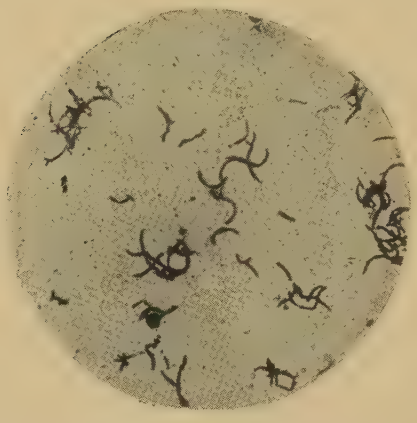

Рис. 5. Ps. Zelinskii n. sp. Жидкая среда II. Семисуточная культура. × 800

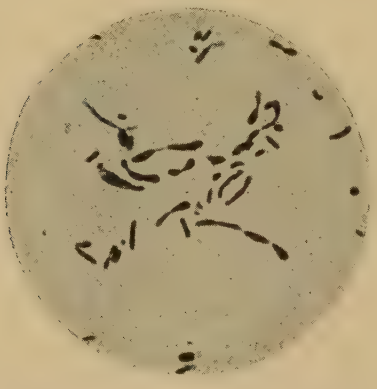

Рис. 6. Ps. Zelinskii n. sp. штамм А МПА. Суточная культура. × 800

Сахара. Слабое развитие только на галактозе. Отсутствие роста на сахарозе, мальтозе, лактозе, глюкозе и левулезе. Культивирование в аэробных условиях приводит к быстрому вырождению культуры.

Анаэробные условия (культивирование в эксикаторе)

МПА и МПБ — рост крайне слабый.

Морфологические особенности Ps. Zelinskii n. sp.

Аэробные условия

МП-среды. Палочка с закругленными концами, прямая или слегка изогнутая. Ширина 0,5—0,6 μ, длина 1—3 μ (рис. 4). Часто биполярные хромофильные зерна при окрашивании основными красками. Иногда скопление хроматина у одного конца. Подвижные клетки только в первые часы роста. Клетки окружены слизью. На вторые сутки массовое появление реактивных форм. В старых культурах на МПБ много нитевидных форм, часто с боковыми почками. Спорообразование не наблюдалось. Грамотрицателен.

Анаэробные условия

Синтетические жидкие среды с сульфатами (I и II). Прямая или изогнутая палочка, несколько крупнее, чем на МП-средах. Ширина 0,5—0,7 μ, длина 1,7—5,0 μ; с возрастом появляются нитевидные изогнутые клетки до 10—15 μ длины (рис. 5). Большое количество изогнутых форм создает сходство с культурой V. desulfuricans. На средах I и II подвижные клетки встречаются в большем количестве, чем на МП-средах. Жгутики расположены у одного конца (наблюдение в темном поле). При окраске жгутиков по способу Бунге[4] обнаружен один жгут на конце клетки. Движение быстрое, поступательное, винтообразное у коротких клеток; змеевидное, медленное у длинных клеток. Спорообразование не наблюдалось.

Морфологические особенности Ps. Zelinskii n. sp., штамм А

Аэробные условия

МП-среды. Клетки имеют нормальный вид только в очень молодых культурах (до 6 часов). Они представляют собою прямую или изогнутую палочку с закругленными концами около 0,6 μ шириной, 2—2,5 μ длиной. Далее появляется большое разнообразие форм: вибрионы, клетки овальные, расширенные у одного конца, шарообразные, нити со вздутием на конце и пр. (рис. 6). Клетки окружены слизью. Подвижные клетки — в первые часы роста. На поверхности МПА двойной среды культура имеет нормальный вид. Спорообразование не отмечено. Окраска по Граму отрицательная.

Анаэробные условия

На синтетических жидких средах с сульфатами — культура сходна по внешнему виду с Ps. Zelinskii n. sp.

Таким образом, исследованные микроорганизмы отличаются друг от друга следующими признаками: Ps. Zelinskii n. sp. сравнительно длительно переносит культивирование в аэробных условиях на обычных средах; штамм А в этих условиях быстро вырождается и гибнет. Ps. Zelinskii n. sp. не гидролизует крахмал, штамм А гидролизует, наблюдаются также различия и в отношении к сахарам и в пигментообразовании. Основная форма развивается на глюкозе, галактозе и

[4] Цит. по Омелянскому [7].

левулезе, штамм А — только на галактозе; основная форма более интенсивно образует растворимый и нерастворимый пигмент. Кроме того, микроорганизмы отличаются формой колоний на МПА, характером роста на картофеле и другими вышеуказанными признаками.

Палочковидная форма микроорганизмов на МП-средах и ряд других вышеуказанных признаков: отсутствие спорообразования, подвижность, расположение жгутика на конце клетки, отрицательная окраска по Граму и пр. заставляют отнести их к роду Pseudomonas Migula. Правда, большое количество искривленных палочек и нитевидных форм при развитии процесса восстановления сульфатов создает сходство с культурой V. desulfuricans Beijerinck, но при ближайшем рассмотрении видно, что изгиб клеток менее правильный, чем у типичных вибрионов. Появление искривленных форм является, вероятно, результатом воздействия условий среды, в частности сероводорода.

На это указывает наблюдение над культурой в двойной среде: в первые сутки развития культуры клетки имеют палочковидную форму, как на поверхности МП-агара, так и в зоне восстановления сульфатов в жидкой среде, содержащей обильный осадок гидроокиси железа и не изолированный от доступа воздуха, что обеспечивает связывание сероводорода.

Возможно, что искривление клеток связано с наступающей дегенерацией, на что имеются в литературе указания [3]. Однако эти формы еще способны к размножению и можно часто видеть деление вибрионоподобных, реже нитевидных клеток.

Выделенные микроорганизмы, повидимому, сходны с Bacterium hydrosulfureum ponticum Zelinskii (1893).

Сходными чертами являются: способность восстанавливать сульфаты и другие неорганические соединения серы в анаэробных условиях и развиваться в отсутствии сульфатов в аэробных условиях, образование растворимого пигмента бурого цвета, способность разжижать желатину, самостоятельное движение. Существенным отличием является неспособность образовывать сероводород из белка и образование нерастворимого пигмента грязнорозового цвета.

Ps. Zelinskii n. sp. обладал способностью восстанавливать сульфаты после длительного культивирования на мясо-пептонной среде в аэробных условиях в отсутствие сульфатов. Количество сероводорода на синтетических средах с сульфатами составляло 113—853 мг/л. Однако непосредственное заражение синтетических сред культурами на МП-средах не давало развития процесса восстановления сульфатов. Для перехода микроорганизма от аэробного существования к анаэробному требовалось постепенное изменение условий. В нашей работе это достигалось применением «двойной среды». Экспериментальные данные по этому вопросу будут приведены в следующей статье.

Приношу глубокую благодарность Б. Л. Исаченко за внимание и содействие проведенному исследованию, Н. Д. Зелинскому за его исключительный интерес к работе и Н. А. Красильникову за ценные консультации.

Выводы

1. Из глубоководных илов Черного моря выделено два микроорганизма, обладающих способностью восстанавливать сульфаты в анаэробных условиях и развиваться в аэробных на обычных МП-средах в отсутствие сульфатов.

2. По своим морфологическим и культуральным признакам оба микроорганизма относятся к роду Pseudomonas Migula. Способность восстанавливать сульфаты в анаэробных условиях отличает их от представителей различных видов этого рода и послужила основанием для выделения их в новый вид Pseudomonas Zelinskii n. sp.

3. Ps. Zelinskii n. sp. образует значительные количества сероводорода на синтетических средах с сульфатами — до 873 мг/л.

4. Выделенные микроорганизмы в некоторых отношениях сходны с Bact. hydrosulfureum ponticum Zelinskii (1893). Они также способны развиваться в аэробных условиях в отсутствие сульфатов и восстанавливать сульфаты в анаэробных условиях. Данное исследование подтверждает работу Зелинского 1893 г.

5. Наблюдение за развитием Ps. Zelinskii n. sp. на различных средах приводит к заключению, что естественной функцией микроорганизма в природе является восстановление сульфатов. Не исключается возможность, что эта функция выработалась в результате приспособления с изменением условий существования микроорганизмов, попадающих на дно в анаэробную зону из верхних кислородсодержащих слоев с остатками планктона.

6. Можно думать, что факультативно-аэробные сульфатвосстанавливающие бактерии играют большую роль в круговороте серы. Являясь менее чувствительными к кислороду, чем облигатно-анаэробные возбудители этого процесса, они должны иметь особенно большое значение в превращении веществ в мелководных бассейнах, периодически высыхающих.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 12. 1. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Зелинский Н. Д. и Брусиловский Е. М. О сероводородном брожении в Черном море и Одесских лиманах. Отчеты о деятельности Одесского бальнеологич. об-ва, вып. V, 1892—1898 гг. (Одесса, 1898).
2. Зелинский Н. Д. Протоколы. Журнал Русского физико-химич. об-ва, т. XXV, стр. 298—303, 1893.
3. Имшенецкий А. А. Строение бактерий, стр. 160, Москва, 1940.
4. Исаченко Б. Л. О бактериальных процессах в Азовском и Черном морях. Тр. Всесоюзн. гидрол. съезда в Ленинграде, 1925.
5. Красильников Н. А. Лучистые грибки и родственные им организмы, Изд. АН СССР, стр. 24, 1938.
6. Малиянц А. А. Микроорганизмы — образователи лечебных грязей и сероводородное брожение. Изв. Гос. Азербайдж. ун-та, т. 5, стр. 5, 1926.
7. Омелянский В. Л. Практическое руководство по микробиологии. стр. 116, Москва, 1940.
8. Пельш А. Д. Динамика десульфатизационного процесса. Труды Соляной лаборатории. Изд. АН СССР, вып. XIV, стр. 5, 1937.
9. Таусон В. О. О восстановлении сульфатов бактериями в присутствии углеводородов. Микробиология, т. 1, вып. 3, стр. 229, 1932.
10. Baars J. R. Over sulfaatreductie door bacterien. Diss. Delft. 1930.
11. Beijerinck M. W. Ueber Spirillum desulfuricans als Ursache von Sulfatreduction. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 1, S. 1, 1895.
12. Emmerich R. W. u. Loew O. Ueber schädliche Bakterientätigkeit im Boden. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 29, S. 668, 1911.
13. Issatchenko B. Sur la fermentation sulfhydrique dans la mer Noir. C. R. Paris, t. 178, No. 26, p. 1, 1924.

О ПРИРОДЕ БАКТЕРИОФАГА

V. ГИПОТЕЗА О СТРОЕНИИ БАКТЕРИОФАГА

А. Е. Крисс

30 лет интенсивной исследовательской работы значительно расширили представления о бактериофаге, но попрежнему остро стоит вопрос о природе этого агента.

Воззрения Д'Эрелля [13], вытекающие из внешнего сходства свойств фага с характерными чертами живого, продолжают существовать и разделяются определенным кругом последователей. Загадочная особенность бактериофага, в своих видимых проявлениях соответствующая биологическим понятиям паразитизма, причем только за счет бактерий, казалось бы, сближает его с ультрамикроскопическими существами — вирусами и дает основания для создания новой таксономической единицы жизни — вируса бактерий.

Как бы ни были значительны различия между фагами к разным видам бактерий или к одному и тому же бактериальному виду, все они тождественны в своих основных свойствах; все они способны вызывать лизис бактерий и воспроизводиться за счет элементов бактериальной клетки. Ассимиляция и диссимиляция, размножение — разве это не основные признаки жизни, ставит вопрос школа Д'Эрелля, требующая признания живой природы бактериофага.

Простая и заслуживающая внимания трактовка Д'Эрелля явлений бактериофагии, однако, ставит сложную проблему для общебиологических представлений о жизни. Нечто, способное в ультрагомеопатических дозах, в разведении 1 : 1 000 000 000, вызывать лизис бактерий, обладающее молекулярным весом в 25 000, имеет величину некрупной белковой молекулы. Может ли быть последняя единицей жизни? Современное естествознание не дает ответа на этот вопрос, но оно позволяет рассматривать в ином аспекте черты «живого», открытые в бактериофаге Д'Эреллем.

При ближайшем рассмотрении реакций, свойственных биологическим катализаторам — ферментам, легко найти много общего с бактериофагией. Катализ, специфичность действия, способность к аутокаталитическому накоплению,—все это в полной мере соответствует характеру бактеориофагического воздействия на бактериальную клетку. Имеющиеся данные (Pirie [26], Northrop [22]) дают основание предполагать, что бактериофагический лизис есть каталитически ускоренный процесс автолиза бактериальной клетки, протекающий согласно общим закономерностям, присущим работе ферментов. Ускорение и торможение реакций фаголизиса, регулируемые концентрацией образующихся продуктов распада бактерий, вполне соответствуют явлениям, типичным для деятельности ферментной системы. В такой же степени специфичность действия фага укладывается в рамки особенностей энзимов, позволяющих им вступать в реакции только с определенным субстратом. Новообразование ферментов есть аутокаталитический процесс, совершающийся в клетке, и, повидимому, аналогичные механизмы определяют накопление бактериофага. Соответственно тому, как небольшие количества пепсина или трипсина переводят всю массу пепсиногена или трипсиногена в активные ферменты, прибавление фага к бактериальной суспензии вы-

зывает каталитически протекающий процесс перехода профага — составной части бактериальной клетки — в активный бактериофаг, сохраняющий в своей специфике черты материнского субстрата. И не только в основных свойствах фаги сходны с ферментами, но и по ряду других особенностей — сравнительной устойчивости к действию физических и химических агентов, адсорбируемости, возможности восстановления утраченной активности и т. п. бактериофаги могут быть отнесены к веществам типа энзимов.

Бактериофаг является продуктом бактериальной клетки, в известном значении данного слова «осколком клетки» (Bail [15], Рыжков [12]). Это положение утверждается многочисленными фактами «спонтанного» и экспериментально вызванного появления бактериофага в культурах бактерий. Несомненным представляется органическая связь явлений образования и накопления фага с химическими процессами обмена веществ в живой, размножающейся клетке (Опарин [11], Коштоянц [6]), и в этом аспекте определенный интерес вызывают опыты Spizizen [24] и Cohen и Fowler [17] по стимуляции репродукции бактериофага некоторыми органическими, особенно ростовыми веществами. Все отчетливее выступает непосредственная зависимость воспроизведения фага от метаболической активности бактериальной клетки — в покоящихся клетках фаг не «размножается», а только в молодых, на фоне бурно протекающих ассимиляционно-диссимиляционных процессов. Нет необходимости опосредовать механизм выключения некоторых систем в протоплазме клетки, приводящий к дезинтеграции, автолизу ее, в биологические представления о паразитизме; слишком много причин, природа которых исключает мысль о живом, вызывает аналогичные явления. Воспроизведение же катализатора автолиза — бактериофага — есть воспроизведение биокаталитических систем клетки, аутокатализ их, связанный с ростом протоплазменного целого. Аутокатализ этих систем в своем внешнем выражении приводит к умножению числа единиц фага (после распада клетки).

Признание энзимоподобной природы бактериофага, однако, ставит новые проблемы, обусловленные спецификой фага, не позволяющей идентифицировать его с известными классами ферментов и далеко не полными сведениями о химической структуре этого биологического катализатора.

Новым фактом, существенным для характеристики бактериофага, установленным в результате проведенных исследований (Крисс и Рукина [7, 8]), явилось то обстоятельство, что элементарная частица фага по своей организации подобна тем биологическим катализаторам, которые представляют собой двухкомпонентную систему. С помощью методов фракционированной элюции и денатурации удалось выявить те же характерные черты в построении бактериофага, какие свойственны значительному ряду ферментов: наличие активных и активирующих группировок, разнородных в химическом отношении и связанных в едином комплексе.

Литический компонент бактериофага, его активная группа не является белком,— повидимому, это сравнительно простое соединение. Нет полной уверенности, судя по отсутствию азота в некоторых препаратах очищенного фага, что найденное в приведенных двух опытах (Крисс и Рукина [8]) количество общего азота относилось целиком к молекулярным группировкам, составляющим агон фага. Вполне возможно сохранение в «меловых» элюатах дериватов белкового компонента, которые и могли определить в какой-то мере наличие азота в конечных препаратах, полученных с помощью метода фракционированной элюции.

Сравнительная простота в химическом отношении активной группы бактериофага, небелковая природа ее, находит свою аналогию не только среди ферментов, но и в ряду веществ, способных вызывать бактериолитический эффект. Успехи химии антибиотиков за последние

годы раскрыли сущность продуктов микробной клетки, обусловливающих, как и бактериофаг, лизис бактерий.

Значителен класс химических соединений, несложных по своему составу, приводящих бактериальную клетку к распаду.

Бактериофаг занимает лишь одно из мест в ряду катализаторов автолитического расщепления бактериальных тел,— повидимому, не требуется особо сложной химической организации фактора, активирующего, выражаясь словами Клейна, «заложенную внутри клетки способность к лизису» [4, 5].

Утверждение о небелковой природе активной группы бактериофага, однако, не отрицает существенного значения белкового компонента. Роль последнего в свете экспериментальных данных становится очевидной, как фактора, обусловливающего устойчивость функции, состояние активности фаговой частицы. Уже на первых ступенях очистки, когда удаляются белковые вещества, имеющие характер бактериальных антигенов, устойчивость фага резко понижается. С дальнейшей очисткой сохранение активности препарата во времени становится трудной и в конце концов неразрешимой задачей, что свидетельствует о функциональном значении белковой основы активной группы, как жизненно важной для всей системы. И вполне вероятно, что в ряде опытов Northrop [23] именно уязвимость белкового носителя определила инактивацию фага, а не специфическое действие факторов на активную группу. Денатурация белка явилась первопричиной деструкции корпускула фага, приводившей к потерям в активности препарата, доказательством чему может служить необходимость известной экспозиции для проявления действия фактора в соответствующих экспериментах. В тех же опытах Northrop, когда химические вещества оказывали непосредственное влияние на активную группу, инактивация происходила почти мгновенно, без изменений, в данный отрезок времени, в дисперсности белка.

Многое из области изучения характера воздействия антисептиков на бактериофаг говорит об отсутствии тождества в восприимчивости литической группы и белкового компонента к действию агентов. Повидимому, возможны три пути реакций инактивации бактериофага с одним и тем же конечным результатом: общее влияние на всю систему, деструкция литического компонента и денатурация белкового носителя.

Естественно, что всякое мероприятие, направленное к повышению устойчивости белкового компонента к внешним воздействиям, не влияющим на активную часть фага, приведет к большей стабильности фагового корпускула. И действительно, было экспериментально показано (Крисс и Рукина [9])) повышение порога инактивации бактериофага при нагревании и высушивании, в присутствии защитных коллоидов и антиденатурирующих веществ. Эти данные, равно как и большое число наблюдений о более длительном сохранении активности бактериофага в белковых растворах, подтверждают точку зрения о специфической функции белковой группы, и здесь нужно вновь подчеркнуть аналогию с теми ферментами, которые представляют собою систему из двух компонентов.

Что же представляет собою в морфологическом выражении двухкомпонентная система — бактериофаг, каково строение его?

Описанные эксперименты (Крисс, Диденко и Стрельцова [10]) оттенили некоторые стороны реакции бактериофага на внешние воздействия. В пределах от нормального функционирования фагового корпускула до его полной деструкции возможно такое изменение в состоянии частицы фага, которое внешне характеризуется ослаблением литической активности ее. Этот тип реакции может быть вызван опытным путем, если бактериофаг подвергать нагреванию и высушиванию в присутствии защитных коллоидов. Поскольку последние «смягчают» влияние денату-

рирующих агентов на белковый компонент, надо полагать, что уменьшение силы литического действия определяется его изменениями — частичной денатурацией, сказывающейся на литическом компоненте. Со временем препараты бактериофага, содержащие частицы с пониженной активностью, сравнительно быстро уменьшают свой титр и обычно фаг не удается обнаружить именно в тех конечных разведениях, где ранее наблюдался неполный лизис. Данное обстоятельство усиливает впечатление о функциональном значении состояния белкового компонента для проявления активности литической группы, так как в опытах по очистке (Крисс и Рукина [8]) отчетливо выявилась непосредственная роль белкового компонента в сохранении активности бактериофага во времени.

Ослабление активности бактериофага проявлялось в неспособности фаговых частиц, несмотря на высокую концентрацию, осуществить лизис бактериальных клеток, которые лизировались тем же, но не денатурированным, бактериофагом. Возникавшие «вторичные» культуры состояли из особей, не отличающихся по морфологическим признакам, биохимическим, серологическим свойствам и вирулентности от исходной культуры. Различие состояло только в лизорезистентности к денатурированному фагу.

Но возникает тогда вопрос, почему вторичный рост проявлялся главным образом в конечных разведениях бактериофага, подвергавшегося денатурирующим воздействиям. Ведь при титровании по методу Аппельмана суспензия бактерий из одной и той же культуры вносится в одинаковом количестве в пробирки со всеми разведениями. Трудно допустить элемент случайности, предположив, что сравнительно более резистентные клетки попали преимущественно в пробирки с разведениями 10^{-9}, 10^{-8}, так как слишком часты картины вторичного помутнения при этих разведениях.

Ответ может быть один: в препаратах фага, подвергавшихся воздействиям, наряду с измененными корпускулами бактериофага, корпускулами с ослабленной активностью имелись и фаговые частицы, с исходной активностью.

Первые превалируют в числе и поэтому обнаруживаются даже в сильных разведениях. Далее, процесс возникновения «вторичного» роста определяется отношением

$$\frac{P_1 \text{ (концентрация корпускул с ослабленной активностью)}}{P \text{ (концентрация корпускул с исходной активностью)}}.$$

Если величина P в данном разведении меньше необходимой для достижения в процессе реакции критического отношения концентраций $\frac{P \text{ (фаг)}}{B \text{ (бактерии)}}$, то лизис будет неполным; в ином случае присутствие корпускул с пониженной активностью не помешает осуществлению лизиса бактерий фаговыми частицами с исходной активностью. Чем дальше в титрационном ряду при разведениях бактериофага сохранится нужное для полного лизиса значение P, тем в меньшем количестве пробирок, начиная с последней, появится волна вторичного помутнения, и, наоборот, значительное изменение в соотношении $\frac{P_1}{P}$ в пользу P_1 может привести к «вторичному» росту не только в разведениях 10^{-9}, 100^{-8}, но и в меньших разведениях препаратов бактериофага, подвергавшегося денатурации. Эти явления наблюдались (Крисс, Диденко и Стрельцова [10], рис. 1 и 2).

Сумма $P_1 + P$ равнялась чаще всего в сухих препаратах $1—9 \cdot 10^9$ (в расчете на 1 мл). Для того чтобы корпускулы фага с измененной активностью достигли при разведении конечной пробирки титрацион-

ного ряда, величина P_1 должна быть в какой-то мере близкой к титру. Если она полностью совпадает с ним, то «вторичный» рост возникнет и в пробирках с начальными разведениями (Крисс, Диденко и Стрельцова [10]; рис. 2, культуры №№ 920, 1361, ВГБИ).

Обратимся к величине P. В большинстве опытов с высушиванием она не превышала 10^6, 10^7, т. е. составляла 0,001—0,01 общей концентрации фаговых частиц. Необходимо признать, что высушивание на воздухе, даже в присутствии защитных коллоидов, заметно сказывается на активности препаратов бактериофага. Денатурирующим фактором является не дегидратация, а процесс дегидратирования. При 0° в условиях вакуума потеря воды не приводит к ослаблению литической активности фаговых корпускул (Крисс и Рукина [9]; рис. 4).

Чем же определяется соотношение $\frac{P_1}{P}$? Повидимому, степенью доступности фаговых частиц действию денатурирующих агентов. Пространственное расположение корпускул должно быть таким, при котором создаются условия неравномерного распределения влияния факторов в массе частиц бактериофага, иначе трудно себе представить возможность сохранения некоторого числа корпускул с исходной активностью.

Наиболее простой схемой, охватывающей все разнообразие описанных явлений, может служить следующая гипотеза: в концентрированных растворах бактериофаг представлен в виде агрегатов глобулярной формы — комплексных корпускул, состоящих из мелких сфер — элементарных корпускул; с разведением или в силу других причин происходит дезагрегация крупных глобул на составляющие их шаровидные микроэлементы фага, как это было показано исследованиями Svedberg [28] и его школы в отношении глобулярных белков. В известном приближении, геометрически, комплексный корпускул можно изобразить фигурой шара с вписанными в нее шариками меньших размеров (рис. 1).

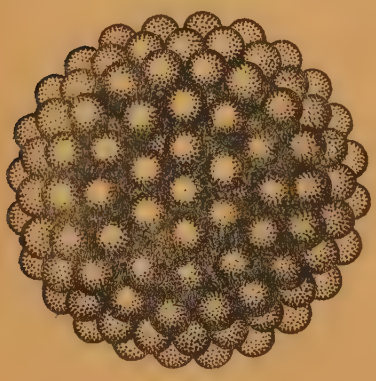

Рис. 1. Схематическое изображение расположения элементарных корпускул в комплексных корпускулах бактериофага

Данная гипотеза находит подкрепление в ряде фактов. С помощью косвенных методов — определениями коэффициента диффузии и скорости седиментации Northrop [23] доказал, что разбавление растворов бактериофага приводит к диссоциации частиц с молекулярным весом в 300 млн. на более мелкие. В его опытах, с уменьшением концентрации фага возрастала пропорция малых корпускул весом около 500 000, т. е. степень дисперсности фаговых частиц явно определялась таким фактором, как разведение фаголизатов.

Форма частиц бактериофага по электронномикроскопическим наблюдениям шаровидная или близка к сферической. Рассматривая в электронном микроскопе препараты очищенного фага, Pfankuch и Kausche [25] убедились в том, что величина шаровидных элементов бактериофага зависит от концентрации растворов: с увеличением ее преобладали крупные шары, и, наоборот, при больших разведениях в поле зрения видны были преимущественно мелкие шаровидные элементы. Здесь уже прямыми наблюдениями была установлена возможность агрегации и диссоциации фаговых частиц, причем эти процессы не сопровождались изменениями в форме корпускул бактериофага.

Приняв такую гипотезу о строении комплексных частиц бактериофага, легко представить, что элементарные корпускулы, составляющие

массу комплекса, будут испытывать неодинаковую степень влияния внешних факторов, в зависимости от удаленности их от периферии шара. В определенных пределах проникающей силы факторов денатурирующий эффект окажется неравнозначным для различных слоев комплекса. Поверхностные слои явятся защитными к глубоко расположенным корпускулам, так же как коллоиды, обволакивая комплексы корпускул, смягчат денатурирующее действие на частицы периферического пояса.

В равных условиях соотношение $\frac{P_1}{P}$ будет определяться численным соотношением элементарных корпускул, располагающихся на периферии и ближе к центру комплексного корпускула. По моей просьбе Соколовский [1] сделал необходимые расчеты и вывел формулы, которые позволяют представить эти числовые соотношения для шара, состоящего из концентрических сферических колец, составленных из плотно примыкающих друг к другу малых шаров.

Если вообразить себе, что в 1 мл фаголизата с титром 10^9 все корпускулы N собраны в один комплекс, имеющий форму шара, то число слоев n в таком комплексе $\approx \sqrt[3]{\frac{3N}{4\pi}} \approx 620$.

В данном примере вся масса элементарных корпускул распределится в следующем порядке. Обозначим через N_1 число элементарных корпускул, заполняющих примыкающую к ядру часть сферы с радиусом R_1. Тогда отношение α числа элементарных корпускул, расположенных ближе к периферии, к общему числу элементарных корпускул N, составляющих весь комплекс, будет $\alpha = \frac{N - N_1}{N}$, а относительное расстояние от периферии β выразится отношением ширины сферического слоя $R - R_1$ к радиусу всего комплекса R

$$\beta = \frac{R - R_1}{R}.$$

Между величинами α и β имеет место зависимость: $1 - \alpha = (1 - \beta)^3$.

Числовые значения к этой формуле следующие:

Если $\beta =$	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
то α в %=	27,1	48,8	65,7	78,4	87,5	93,6	97,3	99,2	99,9	100

Схематически эти отношения изображены на рис. 2.

Эта схема дает наглядное представление о распределении фаговых частиц в агрегатах бактериофага. Около 90% корпускул находятся в наружной половине шара, почти 99% занимают только $^3/_4$ радиуса от периферии.

В ядре глобулы фаговые частицы составляют малый процент к общей массе. В вышеприведенном примере около 1% занимают примерно $^1/_5$ часть (внутреннюю) радиуса. Они «защищены» значительным числом слоев от влияний, идущих от периферии к центру.

Из изложенного вытекает, что соотношение $\frac{P_1}{P}$ явится функцией α

[1] Пользуюсь случаем выразить свою глубокую благодарность проф. В. В. Соколовскому.

при данной силе фактора. Величина a будет зависеть в свою очередь от степени диссоциации агрегатов бактериофага. Чем дальше пройдет процесс дезагрегации, т. е. чем больше образуется малых комплексов, тем больше элементарных корпускул окажется в пограничных слоях. И действительно, разбавленные дизентерийные фаголизаты теряют активность в более короткие сроки хранения по сравнению с неразведенными препаратами, имеющими высокий титр.

При определенной константе диссоциации, т. е. при данной величине комплексных корпускул, соотношение $\frac{P_1}{P}$ будет определяться проникающей силой фактора, зависящей от продолжительности действия и природы фактора.

В наших опытах наблюдались следующие случаи (Крисс, Диденко и Стрельцова [10]; рис. 1, 2).

а) Ослабление активности элементарных корпускул во внешних обводах сферы, показателями чего служит сохранение титра фага и падение активности только в конечных разведениях. Согласно математическим подсчетам, достаточно произойти «мягкой» денатурации корпускул самого периферического слоя, чтобы ее можно было с большей долей вероятности обнаружить по «вторичному» росту в разведении 10^{-9}.

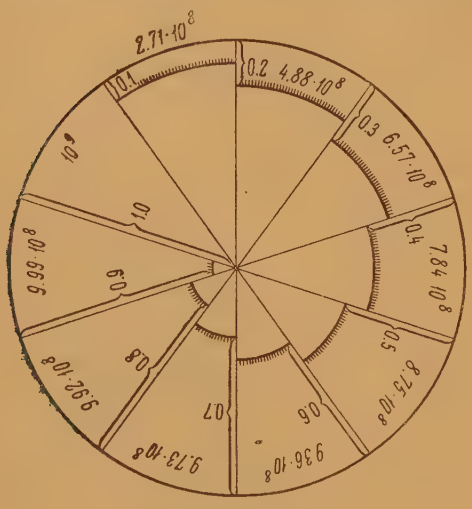

Рис. 2

б) Деструкция элементарных корпускул в периферических слоях комплексного корпускула и ослабление активности частиц в глубже расположенных слоях. Это скажется в снижении титров в 10, 100 раз и в появлении «вторичного» роста, в разведениях 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5} и т. д.

в) Ослабление активности или деструкция элементарных корпускул, не только поверхностных слоев, но и центральных частей сферы, что соответственно проявится в виде «вторичного» роста даже в начальных разведениях, резком снижении титра или полной потере его.

Здесь до сих пор рассматривалось строение комплексных корпускул, агрегатов бактериофага. Что же касается элементарной частицы, то характер пространственной связи агона и феррона бактериофага легко интерпретировать в свете теории Талмуда [1, 2, 3] о структуре белковых молекул.

Изменения в устойчивости литической функции корпускула фага, нарастающие по мере последовательного удаления молекулярных группировок, составляющих белковый компонент, особенности действия на активность препаратов фага денатурирующих агентов приводят к мысли о том, что литические группы фаговой частицы не непосредственно контактируются со средой, окружающей ее, а блокированы или, иными словами, защищены белковым компонентом. Последний можно рассматривать как оболочку вокруг литического компонента, являющегося ядром сферы, т. е. элементарный фаговый корпускул имеет своим прототипом минимальную глобулярную молекулу белка, у которой гидрофобные боковые цепи, составляющие ядро глобулы, покрыты оболочкой из гидрофильных пептидных связей в полипептидной цепи, свернутой в виде спирали вокруг ядра. Теория Талмуда дает наиболее удовле-

творительную схему строения биокатализаторов, в том числе и бактериофага: боковые цепи, связанные с главной полипептидной цепью, т. е. белком, могут быть активными группами разнообразного химического состава.

Обратимся к электронно-микроскопическим исследованиям бактериофага.

В фаголизатах кишечных, дизентерийных палочек, протея и стафилококка, не подвергавшихся очистке, по данным Rusca [27], Kottmann [20], Luria, Delbrück, Anderson [14, 21], Hook и др. [19], наблюдаются, помимо шаровидных форм, также палочковидные и сперматозоидоподобные структуры. Последние представляют особый интерес. В этих образованиях некоторые исследователи склонны видеть новые доказательства живой природы фага.

Delbrück [18], например, не исключает возможности, что сперматозоидоподобные образования — фаги, состоящие из «головки» и «хвоста», обладают активным движением. Согласно его гипотезе «проникновения», после проникновения первого корпускула фага в клетку оболочка ее приобретает непроницаемость для других фаговых частиц. Здесь уже проводится полная параллель с механизмом взаимодействия сперматозоида и яйцеклетки.

Оставляя в стороне рассмотрение экспериментальных доказательств такой гипотезы — они представляются мало убедительными — можно лишь отметить, что работы Rusca [27], Baylor и Clark [16] позволяют сделать противоположный вывод. На фотографиях, приведенных этими авторами, отчетливо видно, как не один, а несколько фаговых корпускул проникают в клетку, причем не только «головками», но и «хвостами». «Хвосты», следовательно, являются не только органом движения, но и необходимым для взаимодействия с бактериальной клеткой элементом фага. Между тем очищенные бактериофаги с высокой активностью не имеют «хвостов» (Pfankuch и Kausche [25]), и, более того, неочищенные фаголизаты кишечной и дизентерийной палочки, т. е. бактериофаги к одним и тем же видам бактерий могут быть представлены морфологически различными структурами, помимо сперматозоидоподобных,— также шаровидными и палочковидными образованиями (Rusca [27]).

Характерно на некоторых фотографиях Rusca, что в процессе проникновения «хвостовой» части бактериофага в клетку «головка» уменьшается в размерах, менее резко поглощает электроны. Rusca и Kottmann высказывают предположение о «развитии» палочковидных и дубинкообразных «d'Herellen» из шаровидных.

Анализ опубликованных исследований по электронной микроскопии бактериофага приводит к убеждению, что все эти картины дают новое, видимое подтверждение теории Талмуда на примере ассоциатов фага: они наглядно иллюстрируют изменения в пространственном состоянии молекул белка, различные стадии перехода из глобулярной формы бактериофага в фибриллярную.

Выводы

Парадоксальный факт проявления пониженной активности бактериофага лишь в сильно разведенных суспензиях находит свое объяснение в гипотезе сферического расположения элементарных корпускул в агрегатах бактериофага. Такое расположение приводит к неравномерному распределению действия денатурирующего фактора в массе частиц, составляющих сферу. С помощью защитных коллоидов удается «смягчить» эффект денатурации, ограничить его распространение поверхностными слоями комплекса, что чаще всего наблюдалось, а иногда и

полностью нейтрализовать влияние нагревания или высушивания. В свою очередь периферические слои элементарных корпускул необходимо рассматривать как защитные для более глубоко расположенных частиц в комплексном корпускуле.

Сферическая или близкая к сферической форма элементарных корпускул, резко выраженные защитные свойства белкового компонента по отношению к литической группе позволяют приложить теорию Талмуда о строении молекул глобулярных белков для характеристики пространственной взаимозависимости белкового и литического компонентов бактериофага. Имеющийся экспериментальный материал — уменьшение устойчивости литической функции по мере удаления отдельных элементов белкового компонента в процессе очистки, т. е. по мере «обнажения» литической группы, реакции бактериофага на внешние воздействия,— приводят к убеждению, что белковый компонент является своего рода «оболочкой» вокруг литического компонента, составляющего «ядро» двухкомпонентной системы — элементарной частицы бактериофага.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 12. V. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев П., Талмуд Б. и Талмуд Д. О природе глобулярных белков. III. Теория структурных взаимопревращений глобулярных и фибриллярных белков ДАН СССР, LV, № 7, 615, 1947.
2. Афанасьев П., Талмуд Б. и Талмуд Д. О природе глобулярных белков. IV. ДАН СССР, LV, № 8, 725, 1947.
3. Бреслер С и Талмуд Д. О природе глобулярных белков. ДАН СССР, XLVIII, 326, 367, 1944.
4. Клейн Б. Теория бактериального лизиса. 1. «Внутренние антагонисты» бактериальной клетки. Микробиология, т. XII, стр. 9, 1943.
5. Клейн Б. Теория бактериального лизиса. II. Явления бактериофагии в свете теории «внутренних антагонистов». Микробиология, т. XIII, стр. 70, 1944.
6. Коштоянц Х. К 50-летию открытия фильтрующихся вирусов. Микробиология, т. XI, стр. 139, 1942.
7. Крисс А. К вопросу о природе бактериофага. Микробиология, т. X, стр. 430, 1941.
8. Крисс А. и Рукина Е. О природе бактериофага. 2. Очищенный бактериофаг и его свойства. Микробиология, т. XVII, стр. 176, 1948.
9. Крисс А. и Рукина Е. О природе бактериофага. 3. Роль защитных коллоидов в сохранении устойчивости бактериофага при денатурирующих воздействиях. Микробиология, т. XVII, вып. 3, 1948.
10. Крисс А., Диденко С. и Стрельцова Е. О природе бактериофага. 4. Литическая активность бактериофага, как показатель состояния фагового корпускула. Микробиология, т. XVII, вып. 4, 1948.
11. Опарин А. Возникновение жизни на земле. М.— Л. 1941.
12. Рыжков В. Проблема эволюции ультравирусов Микробиология, т. XI, стр. 149, 1942.
13. Д'Эрелль. Бактериофаг и его значение для иммунитета. Москва. 1926.
14. Anderson Th. Electron microscopic study of bacteriophage. J. Bact., v. 45, p. 303, 1943.
15. Bail O. Der Stand und die Ergebnisse der Bacteriophagenforschung. Deutsche med. Wochenschr. Bd. 51, S. 13, 1925.
16. Baylor M. a. Clark G. Electron microscope studies of the «interference phenomenon» between bacterial viruses of the Escherichia coli group. J. Bact., v. 53, p. 49, 1947.
17. Cohen S. a. Fowler C. The stimulation of bacteriophage synthesis by indole-3-acetic acid. J. Biol. Chem., v. 167, p. 625, 1947.
18. Delbrück M. Bacterial viruses or bacteriophages. Biol. Rev., v. 21, p. 30, 1946.
19. Hook A., Beard D., Taylor A., Sharp D. a. Beard J. Isolation and characterization of the T_2 bacteriophage of E. coli. J. Biol. Chem., v .165, p. 241, 1946.
20. Kottmann U. Morphologische Befunde aus taches vièrges von Coli-Kulturen. Ctbl. Bakt., I. Abt. Orig. Bd. 143, H. 3/4, S. 94, 1943.
21. Luria S., Delbrück M. and Anderson Th. Electron microscope studies of bacterial viruses. J. Bact., v. 46, p. 57, 1943.

22. Northrop J., Changes in protein-content in bacterial suspensions during lysis and autolysis. Proc. Soc. Biol. a. Med., v. 39, p. 198, 1938.
23. Northrop J. Concentration and purification of Bacteriophage. J. Gen. Physiol., v. 21, p. 335, 1938.
24. Spizizen J. Biochemical studies on the phenomenon of virus reproduction. J. Inf. Dis., v. 73, p. 212, 1943; v. 73, p. 222, 1943.
25. Pfankuch E. u. Kausche G. Isolierung und übermikroskopische Abbildung eines Bakteriophagen. Naturwissensch., 28, Jahrg., H. 3, S. 46, 1940.
26. Pirie A. A chemical change occuring during the lysis of B. coli by bacteriophage. Brit. J. Exp. Path., v. 20, p. 99, 1939.
27. Rusca H. Morphologische Befunde bei der bacteriophagen Lyse. Arch. Virusforsch., Bd. 2, S. 345, 1942.
28. Svedberg u. Pedersen. Die Ultrazentrifuge. 1940.

О ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СЕВЕРНЫХ РАС МИКРООРГАНИЗМОВ

Т. В. Аристовская

Высокая приспособляемость микроорганизмов к условиям внешней среды — явление широко известное.

Отдельные виды бактерий, обитающие на Крайнем Севере, характеризуются низкими температурными оптимумом и минимумом развития (Исаченко [1, 2], Мишустин [6] и др.).

Однако адаптация микроорганизмов к существованию при низких температурах отражается не только на смещении кардинальных точек, но и на некоторых других физиологических свойствах.

Так, исследованиями Мишустина [5] установлено, что северные расы Bac. mycoides имеют более активную каталазу, нежели расы южного происхождения. Аналогичное явление у высших растений наблюдал Курсанов [4], по данным которого растения, обитающие в Заполярье, отличаются чрезвычайно активной пероксидазой.

Является ли высокая активность ферментных систем вообще свойственной представителям северной флоры или сказанное относится только к ферментам, связанным с процессами дыхания, неизвестно.

Для выяснения этого вопроса нами было предпринято изучение ферментных систем трех наиболее распространенных на Кольском полуострове видов плесневых грибов (выделенных из почв района Хибин и Кировска), а также было проведено их сравнение с ленинградскими расами тех же видов. Работа велась с Mucor silvaticus, Mucor Ramannianus и Cladosporium herbarum.

Каждый из этих видов культивировался при 18—20° на среде следующего состава:

K_2HPO_4	0,5 г
$MgSO_4$	0,25 г
NaCl	0,05 г
$FeCl_3$	следы
Глюкоза	4 г
Пептон	1 г
Вода	100 см³

Заражение производилось взвесью спор в стерильной воде. Выращивание продолжалось до момента образования мощной пленки мицелия с первыми признаками спороношения, с целью получения физиологически равноценного материала. У Cladosporium этот момент наступал на 5-е сутки, у M. silvaticus — на 3-и и у M. Ramannianus — на 7-е, причем у последнего из перечисленных видов никогда не удавалось получить пышное развитие. Пленка гриба отмывалась от среды, высушивалась до постоянного веса при 20° и растиралась со стеклом (в отношение 1 : 1 по весу). Полученный порошок употреблялся для определения активности протеазы, которая производилась упрощенным методом Вильштеттера, описанным в работе Кацнельсон [3]. Для определения активности каталазы готовилась водная вытяжка фермента. Для ее получения на каждый грамм грибного порошка добавлялось по 20 см³ воды, полученная суспензия настаивалась в течение 3 часов в термостате при 22°, после чего производилось фильтрование и фильтрат употреблялся для определения ферментной активности. Активность ка-

талазы определялась по методу Баха и Опарина. Показателем активности инвертазы служило количество образовавшегося за единицу времени редуцирующего сахара в системе, содержащей 10 см³ 5% раствора сахарозы, 15 см³ буферной смены pH = 4,5, 10 см³ ферментной вытяжки и несколько капель толуола в качестве антисептика. В контрольные колбы во всех опытах добавлялся фермент, инактивированный нагреванием при 100° на водяной бане. Все опыты ставились в 2- и 3-кратной повторности. Полученные результаты сведены в прилагаемых таблицах 1, 2 и 3.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что северные расы всех трех видов грибов характеризуются во много раз (иногда в 10 раз) более высокой активностью каталазы, чем ленинградские. У M. silvaticus эта разница между расами выражена наиболее отчетливо, у M. Ramannianus наименее. Несмотря на то, что от опыта к опыту полученные цифры довольно сильно варьируют, общая закономерность во всех случаях выявляется одна и та же.

Таблица 1

Активность каталазы, выраженная в кубических сантиметрах 0,1*N*$KMnO_4$ соответствующих разложившейся под влиянием фермента H_2O_2

№ опыта	Вид гриба	Раса	$KMnO_4$ в см³
1	Cladosporium herbarum . . .	Ленинградская	0,2
	» » . . .	Кольская	2,0
2	» » . . .	Ленинградская	2,8
	» » . . .	Кольская	5,7
1	Mucor silvaticus	Ленинградская	0,5
	» »	Кольская	2,5
2	» »	Ленинградская	1,3
	» »	»	1,3
	» »	Кольская	10,90
	» »	»	12,10
3	» »	Ленинградская	0,55
	» »	»	0,20
	» »	Кольская	10,85
	» »	»	10,80
1	Mucor Ramannianus	Ленинградская	11,3
	» »	»	12,3
	» »	Кольская	19,3
	» »	»	19,3
2	» »	Ленинградская	4,0
	» »	»	4,3
	» »	Кольская	7,0
	» »	»	7,1

Таблица 2

Активность инвертазы Cladosporium herbarum, выраженная в миллиграммах редуцирующего сахара, образовавшегося под влиянием фермента за единицу времени

№ опыта	Раса	Сахар в мг
1	Ленинградская	18,8
	Кольская	29,0
2	Ленинградская	17,8
	Кольская	49,6

Это говорит о том, что отмеченное Мишустиным явление для Bac. mycoides действительно носит общий характер и, повидимому, связано с адаптацией микроорганизма к условиям севера. Изучение активности инвертазы Cladosporium herbarum показало, что и этот фермент приблизительно в полтора-два раза активнее у северной расы, чем у ленинградской (табл. 2).

На основании приведенного материала можно было бы ожидать, что вообще ферментные системы северных рас микроорганизмов должны отличаться от южных повышенной активностью.

Но вопреки нашим ожиданиям оказалось, что протеза кольских рас отличается от протеазы ленинградских рас. Как видно из табл. 3, в отдельных случаях ее активность несколько превышает протеолитическую активность ленинградских рас, но иногда, наоборот, уступает ей. Только у M. Ramannianus северная раса постоянно оказывается несколько менее активной, нежели ленинградская. Цифры, полученные для Cladosporium herbarum и M. silvaticus, носят неустойчивый характер, и от опыта к опыту относительная активность ленинградской и кольской расы этих видов меняется.

Различие протеолитической активности северных и ленинградских рас в общем очень невелико. Повидимому, свойства ферментов углеводного обмена и ферментов, связанных с процессами дыхания, являются менее устойчивым признаком организма, чем свойства протеаз, к чему мы еще вернемся ниже.

Предполагая, что отмеченная выше повышенная активность каталазы и инвертазы северных рас плесневых грибов вызывается воздействием на организм низких температур, мы провели пока, к сожалению, только два опыта с выращиванием северной расы Cladosporium herbarum при двух разных температурах и при всех прочих равных условиях. Оказалось, что организм, выросший при 10°, отличался почти в два с половиной раза более активной каталазой, нежели выросший при 20°. Активность инвертазы была также несколько выше у гриба, выросшего при более низкой температуре. Так, если вытяжка гриба, выросшего при 20°, образовывала в течение трех часов 21,0 мг редуцирующего сахара, то то же количество гриба, выросшего при 10° за тот срок, давало 24,8 мг и в параллельном опыте — соответственно — 39,5 мг и 46,1 мг.

Так как при низких температурах все химические реакции, в том числе и ферментативные, протекают медленнее, то увеличение ферментативной активности у северных организмов по сравнению с южными вполне понятно и может расцениваться как своеобразный компенсирующий механизм.

Отмеченное нами выше отсутствие различия в активности протеаз у различных географических рас плесневых грибов можно, быть может, объяснить тем, что белки, с которыми связана деятельность этих ферментов, представляет собой более устойчивую часть живой клетки по сравнению с углеводами, которые расходуются организмом при дыхании в первую очередь. В связи с этим увеличение активности ферментов углеводного обмена и каталазы вполне закономерно.

Если сравнить ферментативную активность одних и тех же рас различных видов плесневых грибов друг с другом, то можно заключить, что более активными ферментными системами характеризуется M. silvaticus, наименее активными — Cladosporium herbarum (табл. 1 и 3).

На этом основании можно считать, что первый из названных видов является организмом, более приспособленным к существованию в суровых условиях севера, нежели второй. Это подтверждается также наи-

Таблица 3

Активность протеазы плесневых грибов, выраженная в кубических сантиметрах КОН, пошедших на титрование образующихся под влиянием фермента кислот

№ опыта	Вид гриба	Раса	Количество КОН в см³				
			0 час.	24 час.	нарастание	48 час.	нарастание
1	Cladosporium herbarum	Ленинградская	5,30	6,70	1 40	7,40	2,10
			5,25	6,30	1 05	7,0	1,75
		Кольская	5,40	6,20	0,80	6 90	1,58
			5,35	6,20	0,85	7,0	1,65
	Контроль		4,6	4,75	0 15	4,50	0,10
2	Cladosporium herbarum	Ленинградская	3,60	5,4	1 80	6,2	2,6
			3.50	5,0	1,50	6,1	2,6
		Кольская	4,0	5,4	1 40	7,0	3,0
			4,10	5,50	1,40	6,8	2,7
	Контроль		3,4	3,50	0 1	3,9	0,5
1	Mucor silvaticus	Ленинградская	4,90	7,75	2,85	9 50	4,60
			4,85	7,20	2,35	9,70	4,85
		Кольская	4,25	6,60	2,45	9,80	5,65
			4,15	6,75	2,60	9,50	5,35
	Контроль		3,45	3 55	0 10	3,50	0,05
2	Mucor silvaticus	Ленинградская	4,80	7 75	2,95	9,25	4.45
			4,75	6,70	1,95	8,85	4,10
		Кольская	3,50	4,50	1 00	5,80	2,30
			3,60	4 50	0,90	6,00	2,40
	Контроль		3,75	4.0	0 25	4.10	0,35
1	Mucor Ramannianus	Ленинградская	4,10	7,60	3 50	—	—
			4,10	7,25	3,15	—	—
		Кольская	3.40	5 40	2 0	—	-
			3,40	5 30	1,9	—	-
	Контроль		2,80	2,90	0,10	—	—
2	Mucor Ramannianus	Ленинградская	1,80	2,45	0 65	3,50	1,70
			1.82	2,52	0,70	3,70	1.68
		Кольская	1 80	2,30	0 50	2,90	1,10
			1,81	2,32	0,51	3,20	1,39
	Контроль		1,75	1,75	—	1,80	0,05

более сильным повышением активности каталазы у северной расы M. silvaticus по сравнению с ленинградской расой.

Полученные данные по характеристике ферментных систем северных рас микроорганизмов позволяют заключить, что эти организмы обладают значительными потенциальными способностями разлагать органическое вещество.

Таким образом, вялое течение процессов минерализации в северных почвах нельзя, повидимому, объяснить слабой ферментативной активностью почвенных микроорганизмов.

Выводы

1. Изучение ферментативной активности кольских и ленинградских рас трех видов плесневых грибов показало значительно более высокую активность каталазы и инвертазы у северных рас по сравнению с ленинградскими.

2. Активность вырабатываемой организмом протетазы, видимо, в меньшей степени зависит от температурных условий среды, в которых существует данный организм, нежели активность каталазы и инвертазы.

3. Cladosporium herbarum, выросший при 10°, отличается более активными инвертазой и каталазой, нежели тот же вид, выросший при 20°.

Это позволяет предполагать, что повышенная активность ферментных систем северных рас микроорганизмов связана с существованием при низких температурах.

Кольская база
Академии Наук СССР

Получено 13. III. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Тр. Мурманск. научно-пром. экспедиции 1906 г., Петроград, 1914.
2. Исаченко Б. Л. и Симакова М. Л. Бактериологическое исследование почв Арктики. Тр. Аркт. ин-та, т. IX, 1934.
3. Кацнельсон Р. С. Изменение pH среды плесенями. Изв. Научн. ин-та им. Лесгафта, т. 20, вып. 3, 1937.
4. Курсанов А. Л. и Крюкова Н. Н. Влияние географического фактора на активность пероксидазы в растениях. Биохимия, т. 10, вып. 2, 1945.
5. Мишустин Е. Н. и Мишустина В. К. Активность каталазы географических рас. Bac. mycoides. Микробиология, т. XV, вып. 4, стр. 285, 1946.
6. Мишустин Е. Н. Энергия размножения у географических рас. Bac. mycoides. Микробиология. т. XIII, вып. 1, 1944.

О РАСПРОСТРАНЕНИИ GLOEOSPORIUM LAGENARIUM (PASS). SACC. ET ROUM. ВОЗДУШНЫМИ ТЕЧЕНИЯМИ

М. Н. Родигин

Вопрос о распространении грибов воздушными течениями является не новым. В литературе имеются многочисленные указания о нахождении в воздухе главным образом спор разнообразных грибов. Наибольшее число наблюдений в этом отношении относится к ржавчинам, головневым и некоторым другим грибам.

По этому вопросу Степанов [3] писал, что подавляющее большинство грибов легко рассеивает свои споры по воздуху. Одни из них — «типичные анемохоры» — распыливают зрелые споры почти все время, причем чем сильнее ветер, тем в большем количестве они попадают в воздух. Другие — «ограниченные анемохоры» — рассеивают споры при определенных условиях (дождь, роса и т. п.). Наконец, имеются грибы «гидрохоры», которые не рассеивают своих спор свободно в воздухе, отчленяя их при помощи падающих капель воды. К числу таких «гидрохоров» Степанов относит грибы типа Colletotrichum, Gloeosporium, Fusarium и т. п., споры которых рассеиваются с брызгами дождя.

Однако по поводу распространения спор воздушными течениями у грибов типа Colletotrichum и Gloeosporium имеются и противоположные указания.

Учитывая важность разбираемого вопроса для разработки профилактических мер борьбы с возбудителем антракноза тыквенных растений (Gloeosporium lagenarium) и отсутствие единого мнения по этому вопросу в литературе, мы провели специальные исследования по вопросу о возможности распространения указанного гриба воздушными течениями.

Способность конидий G. lagenarium к отчленению из спорокучек

По вопросу отчленения конидий у меланкониевых грибов Степанов [3] писал, что споры у них выступают на поверхность, будучи заключенными в слизистое вещество. В этом случае, если споры и могут, очевидно, рассеиваться ветром, то только после растворения дождем слизистого вещества и подсыхания их. Что касается рассеивания таких спор вскоре после выхождения их наружу слизистой массой, то таковое не должно иметь место. Изучая способность к отчленению конидий, в частности у Colletotrichum lini, он установил, что отчленяемость их у этого гриба представляет собою процесс, не осуществимый при отсутствии смывания их каплями воды.

По поводу G. lagenarium Ходаковский [4] отмечал следующее: «что касается разноса разрозненных спор воздушными течениями, то я отрицаю возможность такового. Прежде всего, это соображение должно вытекать уже при рассматривании самой конституции спорокучек гриба, которые в случае засушливой погоды имеют твердую, целлулоидообразную консистенцию и отделение спор становится невозможным. При увлажнении же споры не могут разноситься, благодаря липкости клейкой массы спорокучек, с момента же полного растворения спорокучек, разрозненные споры, опять-таки, не могут разноситься воздушными

течениями, в силу влажности. В последнем случае, они начинают прорастать, при последующем же высыхании теряют способность к заражению».

Следовательно, вышеуказанные соображения не допускают возможности у грибов типа Gloeosporium и Colletotrichum и, в частности, у G. lagenarium отчленения конидий от липкой массы спорокучек.

Для окончательного убеждения в этом нами были проведены исследования — прежде всего по методу, предложенному Степановым.

Опыт проводился с культурой гриба на ломтиках белого хлеба. Первоначально спорокучки гриба были получены в пробирках. Затем стерильной иглой отдельные частицы белого хлеба с спорокучками переносились на желатину, разлитую в чашки Петри с таким расчетом, чтобы спорокучки помещались сверху частиц белого хлеба. После того как мицелий гриба начал пронизывать желатину (через 2 дня), с чашками Петри поступали так же, как в предыдущем опыте.

Наконец, параллельно с указанными выше опытами выяснялась возможность отчленения конидий от спорокучек, развившихся на плодах. Для этой цели бралось по 10 плодов арбуза и дыни. В лабораторных условиях эти плоды искусственно заражались чистой культурой гриба по методу наложения колец ван-Тигема. При появлении спорокучек на 15-й день после заражения чистые покровные стекла с колец осторожно снимались и быстро заменялись такими же стеклами, но с нанесенной на нижнюю поверхность желатиновой средой; при этом к верхнему концу колец такие стекла приклеивались менделеевской замазкой. После этого плоды помещались на специально изготовленных рейках, где поверхность их с приклеенными кольцами обращалась вниз. В таком виде плоды оставались в течение 10 дней.

Во всех трех опытах получены отрицательные результаты. Не было получено ни одной колонии гриба. Таким образом, нами, несомненно, подтверждено, что G. lagenarium не может отчленять свои конидия от спорокучек.

Возможность витания конидий G. lagenarium в воздушных слоях

Если в предыдущих опытах установлено, что конидии G. lagenarium не в состоянии отчленяться от липких спорокучек, то можно было бы сделать вывод о невозможности их рассеивания и витания в воздухе. Однако наши наблюдения и практика многих бахчеводов Юго-Востока показывают обратное.

а) Исследование воздуха на присутствие конидий G. lagenarium

Отсутствие возможности разноса конидий G. lagenarium при помощи воздушных течений Ходаковский пытался подтвердить опытами с аэроскопом.

В своих исследованиях, проведенных в окрестностях Астрахани еще в 1928 [1] и 1937 гг., мы ставили цель выяснить присутствие конидий G. lagenarium в воздушных слоях, окружающих постоянные очаги его в полях.

В 1928 г. проведены лишь ориентировочные наблюдения.

В начале августа, когда со дня на день ожидали появления антракноза, на экспериментальном участке бывш. Астраханской станции защиты растений нами были поставлены посредством аэроскопа исследования воздуха на присутствие конидий. В результате, наряду с большим количеством спор различных грибов в ловчее стекло аэроскопа были занесены и конидии, оказавшиеся принадлежащими G. lagenarium, что подтвердилось при посевах их на питательную среду.

В 1937 г. опыты по улавливанию конидий G. lagenarium были поставлены на полях Астраханской плодо-ягодной опытной станции, на участках, где в предыдущие годы антракноз отсутствовал, и на полях с. Три Протока, в местах, где ежегодно наблюдались очаги заболеваний.

Опыты ставились в следующих вариантах:

Первый вариант. Улавливание конидий из воздуха производилось в аэроскопах.

Второй вариант. Улавливание конидий производилось на предметные стекла, смазанные желатин-глицерином.

Наблюдения над улавливанием конидий в аэроскопы установили: 1) на полях с. Три Протока на высоте 1 м от поверхности почвы зарегистрировано улавливание конидий G. lagenarium в количестве 10 раз, в следующие сроки: 2/VII — 5, 3/VII — 16, 4/VII — 2, 11/VII — 14, 12/VII — 11, 13/VII — 1, 21/VII — 1, 22/VII — 23, 29/VII — 2; на тех же полях на высоте 10 м зарегистрировано улавливание только 13/VII в количестве 4 конидий. Сопоставляя эти данные с условиями погоды в указанные месяцы, можно видеть, что почти во всех случаях улавливание конидий начиналось через 1—2 дня после дождей и продолжалось примерно такой же срок. Улавливание конидий на высоте 10 м, зарегистрированное 13/VII, совпало с наблюдавшимся перед этим (11/VII) сильным штормом. Возможно, что штормовым ветром конидии могли попасть на такую высоту; 2) на полях Опытной станции не было зарегистрировано ни одного случая улавливания конидий. Опыты с улавливанием конидий на предметные стекла показали: а) на полях с. Три Протока улавливание конидий G. lagenarium зарегистрировано в следующие сроки (табл. 1).

Таблица 1

Месяцы	Места нахождения стекол		
	поверхность почвы	листья арбуза	плоды арбуза
	Числа месяца		
Июль	2, 3, 4, 10, 11, 12, 21, 23, 20, 29	2, 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13, 21, 22, 23, 26, 29	2, 3, 4, 11, 13, 14, 22, 23, 29
Август	—	1, 2	2

б) На полях опытной станции на всех стеклах были зарегистрированы конидии только 12/VII, что, видимо, следует объяснить заносом их во время шторма 11/VII.

Таким образом, опыты 1937 г. показали, что конидии G. lagenarium могут находиться в воздушных слоях и распространяться с ветром.

б) Причина поражаемости G. lagenarium верхней стороны плодов арбузов и дынь

При внимательном осмотре больных арбузов и дынь на бахчах можно всегда наблюдать, что пятна, вызываемые антракнозом, бывают двух видов: одни вдавленные, крупные, расплывчатые, с неправильно расположенными спорокучками и обычно встречаемые на нижней поверхности плодов («мокрая медянка»). Такое поражение в большинстве случаев наблюдается на орошаемых полях или вскоре после прошедших ливневых дождей. Другие — выпуклые, мелкие, не гниющие быстро, вначале как бы сухие, с концентрически расположенными спорокучками и исключительно наблюдаемые на верхней стороне плодов («сухая

медянка»). Такой вид поражения главным образом встречается в степном бахчеводстве, где редко бывают дожди и отсутствует искусственное орошение. Ходаковский, подтверждая в этом отношении наши наблюдения, пытался выяснить причину поражаемости антракнозом в полевых условиях верхней стороны плодов арбузов и дынь. В своих исследованиях он обращал внимание на количество устьиц, находящихся на верхней и нижней стороне плодов; изучая химизм покровных тканей арбуза, проверял возможность переноса мицелия гриба из плетей в плоды, и в результате все эти факторы не смогли объяснить причины указанного выше явления. Однако он пришел к тому же выводу, который нами был отмечен еще в 1930 г. [1], что секрет данного явления заключается только в вопросе разноса конидий гриба. Но Ходаковский, ссылаясь на свои предыдущие исследования, отклонил возможность разноса конидий воздушными течениями и в итоге пришел к неправильному заключению, сводя объяснение указанного явления только к разносу конидий насекомыми.

Чтобы окончательно осветить данный вопрос и выяснить причину поражаемости верхней стороны плодов, нами были проведены следующие варианты опытов.

Первый вариант. Для опытов брались арбузы, доставленные нами со степной и поливной бахчи. Первые имели характерное поражение только верхней стороны плодов в виде «сухой медянки», а вторые — нижней стороны плодов в виде «мокрой медянки». У пяти плодов из каждой полученной партии арбузов микроскопически исследовалась пораженная ткань, начиная от основания спорокучек, и последние окрашивались гематоксилином Делафильда. Разница между этими видами поражения, как удалось установить, заключается в том, что в случае поражения нижней стороны плода пятно образуется в результате прорастания огромного количества конидий, ростковые трубки которых, сплетаясь и разветвляясь, образуют вдавленное пятно со спорокучками, неправильно располагающимися на поверхности; в случае поражения верхней стороны плода нами отмечено разветвление мицелия от одной или двух ростковых трубок, возникших в результате прорастания одной или двух конидий.

Второй вариант. Плоды арбузов в количестве 10 штук с вечера выносились в огород и помещались на фильтровальную бумагу, разложенную на поверхности почвы. Почва под этой бумагой с вечера и до 2 часов следующего дня усиленно поливалась дождевой водой, создавая, таким образом, постоянное увлажение нижней стороны плодов.

Другая часть арбузов в количестве 10 штук помещалась в этом же огороде на невысоких деревянных подставках. В 5 часов утра на следующий день, когда поверхность плодов была увлажена капельками росы, производилось искусственное нанесение на них конидий G. lagenarium.

На нижнюю поверхность каждого арбуза, помещенного на фильтровальную бумагу, наносились пипеткой собранные крупные росяные капельки в количестве 5 штук, в которые вносилось из чистой культуры большое число конидий. На следующий день в 2 часа дня эти плоды переносились в лабораторию и поверхность тех участков плода, где помещались росяные капельки с конидиями, накрывалась кольцами ван-Тигема.

Точно так же на каждом арбузе, помещенном на подставках, в 5 росяных капелек, располагающихся на верхней стороне плода, вносились из чистой культуры по 1—2 конидии в каждую. Затем эти плоды быстро переносились в лабораторию и места инокуляции покрывались кольцами ван-Тигема, в которых росяные капли сохранялись в течение полутора суток. Опыт проводился в течение 6 дней, при температуре воздуха 20—21°.

Заражение конидиями G. lagenarium арбузов с нижней поверхности во всех случаях дало положительные результаты. Возникшие антракнозные пятна были очень крупными, доходившими до 1,5 см в диаметре, расплывчатыми и местами глубоко вдавленными в ткань.

Заражение арбузов с верхней стороны в отдельных случаях хотя и не имело успеха, но возникшие антракнозные пятна тем не менее имели весьма типичный вид для подобного поражения. Поверхность пятен в основном была слегка выпуклая и только в отдельных случаях — плоская. По размеру они не превышали 2—3 мм в диаметре. По окраске пятна во всех случаях были серовато-белыми с отдельно располагающимися многочисленными спорокучками. Таким образом, вышеприведенные опыты показали, что причиной поражаемости антракнозом верхней стороны плодов арбузов в виде так называемой «сухой медянки» является инфекция последней разрозненными конидиями, по-видимому, оседающими из воздуха.

в) Роль росы в осаждении конидий G. lagenarium из воздуха

Население Нижнего Поволжья в результате многолетних наблюдений считает, что в появлении антракноза имеют важное значение росы. Наши наблюдения подтвердили справедливость такого мнения.

В степном бахчеводстве Сталинградского края причиной появления антракноза считают так называемый населением «соленый дождь» или «дождь сквозь солнце». Это приписывается обычно явлению, когда из слабо заметных дождевых облаков идет мелкий, едва ощутимый дождь. Повидимому, такой дождь, как и роса, способствуют своими каплями осаждению конидий из воздуха.

В связи с этим может возникнуть вопрос, не может ли подобная влага в виде дождя и росы, благодаря своей конденсации на поверхности конидий, наоборот, препятствовать рассеиванию и осаждению их из воздуха.

Конденсация влаги в сыром воздухе, нам думается, для конидий G. lagenarium не может служить препятствием. Наши наблюдения показывают, что антракноз может попасть на растения из воздуха путем постепенного осаждения конидий под влиянием росы или вышеупомянутого «дождика сквозь солнце». Роса и такой дождик, благодаря равномерному смачиванию поверхности плодов и созданию той среды, в которой произрастают конидии, способствуют обычному виду заболевания типа «сухой медянки», часто наблюдаемому в Нижнем Поволжье. Обычный же дождь, благодаря смыванию с поверхности плодов конидий и скоплению их в нижней части, способствует загниванию типа «мокрой медянки».

Источники, обеспечивающие попадание конидий G. lagenarium в воздушные слои

После всего вышеизложенного, естественно, возникает вопрос: если конидии G. lagenarium не могут отчленяться от массы липких спорокучек, то откуда же они попадают в воздушные слои?

Нами уже было отмечено, что при ручной выемке семян предварительное увлажнение (смачивание) конидий с последующим постепенным подсыханием позволяет им сохраниться до 6 месяцев; исходя из этого, надо полагать, что попадание конидий в воздух после растворения спорокучек вполне возможно. К выяснению этого вопроса мы подошли с другой стороны. Обыкновенно к концу лета или осенью, как было нами установлено, образование конидий прекращается, про-

исходит разрастание конидиальной стромы и постепенное превращение гимениального слоя в склероции.

Желая выяснить пути весеннего возобновления плодоношений у G. lagenarium, мы провели следующие наблюдения.

Пораженные антракнозом листья, стебли и частицы коры арбузов мелко нарезались и осенью закладывались в кассеты Клебана и в специальные «почвенные ящики».

Мелко нарезанные пораженные части арбузов помещались между листами фильтровальной бумаги и затем закладывались в кассеты. Эти кассеты выставлялись в огороде, на почву и привязывались к столбу.

«Почвенные ящики» представляли собой деревянную раму длиной 20 см, шириной 12 см и высотой 7 см, в которую накладывалась почва высотой до 5 см. С обеих сторон такая рама обтягивалась сеткой, сплетенной из тех же ивовых прутиков. Такие «почвенные ящики» затем помещались в поле в специально вырытые в почве углубления, по размеру ящика, с таким расчетом, чтобы уровень почвы в ящиках на 2 см был ниже уровня полевой почвы. В эти ящики также помещались пораженные части арбузов. Как кассеты Клебана, так и «почвенные ящики» оставлялись на зиму. Начиная с весны, после схода снега, ежедекадно производился просмотр пораженных тканей в бинокулярном микроскопе.

В кассетах Клебана при бинокулярном просмотре, начиная с 8 апреля по 5 июля, в пораженных тканях различных частей арбуза постоянно наблюдались только склероции и бесплодные стромы. Повидимому, присутствие фильтровальной бумаги в какой-то степени оказывало задерживающее влияние на спорообразование.

В «почвенных ящиках» наблюдения показали другие результаты, которые представлены в табл. 2.

Таблица 2

Сроки наблюдений	Среднесуточная температура воздуха в °	Стадия гриба	Примечание
8/IV	12	Склероции	
18/IV	14	»	
28/IV	11	»	
6/V	13	»	15/V выпал дождь
16/V	18	»	25/V » »
25/V	21	Склероции, конидиеносцы и конидии	
5/VI	24	То же	3/VI » »
15/VI	20	»	12/VI » »
25/VI	26	Склероции	
5/VII	25	»	

Из табл. 2 видно, что в «почвенных ящиках» до 26 мая в пораженных тканях гриб находился в стадии склероциев и только при наблюдениях 26 мая, 5 и 15 июня на поверхности склероциев были обнаружены отдельные, разрозненные, несколько уродливые по форме конидиеносцы, образующие на своих концах одиночные конидии, легко отпадающие при незначительном сотрясении субстрата [2].

Нет сомнения в том, что именно такие конидии способны отчленяться от своих конидиеносцев и попасть в воздушные слои. Тем более это подтверждается нашими опытами по улавливанию конидий из воздуха в местах ежегодно наблюдающихся очагов заболевания. Таким об-

разом, источниками, обеспечивающими попадание конидий в воздушные слои, являются зимующие в полях пораженные растительные остатки.

Выводы

1. Паразитный грибок Gloeosporium lagenarium, вызывающий антракноз тыквенных растений, в силу конституции своих плодоношений не способен отчленять конидии от липкой массы своих спорокучек.

2. Опыты по улавливанию конидий в аэроскопы и на предметные стекла позволили установить, что конидии антракнозного гриба могут находиться в воздушных слоях и распространяться с ветром.

3. Причиной поражаемости антракнозом верхней поверхности плодов арбузов в виде так называемой «сухой медянки» является инфекция последней разрозненными конидиями, оседающими из воздуха.

4. Осаждение конидий антракнозного гриба из воздуха происходит под влиянием росы или дождя. Роса, благодаря равномерному смачиванию поверхности плодов, способствует заболеванию типа «сухой медянки»; обычный или ливневый дождь, благодаря смыванию с поверхности плодов конидий и скоплению их в нижней части, способствует загниванию типа «мокрой медянки».

5. Источниками, обеспечивающими попадание конидий антракнозного гриба в воздушные слои, являются перезимовавшие в пораженных растительных остатках склероции гриба, при благоприятных условиях образующие гифомицетного типа конидиальные плодоношения.

Башкирский сельскохозяйственный институт
Уфа

Получено 13. III. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Родигин М. К вопросу о способах распространения антракноза тыквенных. Журн. опыт. агром. Юго-Востока, т. VIII, вып. 4, 1930.
2. Родигин М. К вопросу о полиморфизме Gloeosporium lagenarium (Pass.) Sacc. et Roum. ДАН СССР, т. LIX, № 4, 1948.
3. Степанов К. Распространение инфекционных болезней растений воздушными течениями. Тр. по защите раст., сер. II, вып. VIII, 1935.
4. Ходаковский Н. Некоторые данные к биологии Colletotrichum lagenarium Ell. et. Halst, вызывающего заболевание антракнозом бахчевых культур. Результ. исслед. Отд. фитопат. Нем. Стазра за время с 1928 по 1930 г. 1931.

МОБИЛИЗАЦИЯ ФОСФАТОВ В ПОЧВЕ В СВЯЗИ С ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬЮ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МИКРОБОВ

Р. И. Пиковская

Бактериальная флора почвы, выделяющая большие количества CO_2 и других кислот и вместе с тем являющаяся интенсивным потребителем P_2O_5, в значительной степени влияет на баланс подвижной P_2O_5 в почве.

Микробиологические работы в этом направлении в основном касаются косвенного значения продуктов жизнедеятельности почвенной микрофлоры в мобилизации фосфатов в почве.

Задачу настоящей работы составляло выявление роли отдельных видов бактерий в мобилизации фосфатов в почве и исследование эффективности применения некоторых активных, растворяющих фосфаты видов бактерий в почве с растением. Основной интерес определила выделенная новая группа или вид бактерий, значительно отличающихся фосфорраствояющей способностью от других физиологических групп микробов.

Экспериментальная часть

Поиски микробов, растворяющих фосфаты, были начаты с субстратов, содержащих труднорастворимые фосфаты. Существование бактерий на них должно быть связано со способностью последних растворять труднорастворимые фосфаты и извлекать из них P_2O_5. Первые опыты в этом направлении подтвердили правильность нашего предположения. При посеве фосфоритной муки на среду, содержащую $Ca_3(PO_4)_2$ был выделен микроб, интенсивно растворяющий трифосфат кальция.

Выделение микробов, растворяющих трифосфат кальция, велось на среде следующего состава:

водопроводной воды	—	1000 см³
$Ca_3(PO_4)_2$	—	5 г
глюкозы	—	20 „
NaCl	—	0,2 „
$MgSO_4$	—	0,1 „
$MnSO_4$	—	следы
$FeSO_4$	—	„

Плотная среда содержала 2% агар-агара.

Первые, выделенные из двух образцов фосфоритной муки микробы, растворяющие трифосфат кальция, как и последующие, выделенные из 4 образцов украинских почв (условно названные микробами Р), отличались следующими культуральными, морфологическими и биохимическими признаками.

На твердой среде культура имеет вид слизистых колоний, окруженных зоной растворения трифосфата кальция. По мере роста микроб культурально и морфологически меняется. Колонии в центре пигментируются от слабожелтого до коричневого цвета. При микроскопировании культуры выявлен плеоморфизм: переход от палочек до продолговатых кокков в $1 \times 0{,}6$—$0{,}8$ μ. В клетках заметны 1—2 зернистых включения. Хорошо заметны капсулы, которые при старении клетки уменьшаются. По Граму микробы не красятся, неподвижны. На углеводах: глюкозе, лактозе, маннite, сахарозе и мальтозе в течение 20 дней не выявлено роста. Молоко, лакмус, нитратный бульон, крахмальный агар микробы не меняют, на белковых средах не растут, желатину не разжижают (рис. 1, 2, 3).

Выделенные культуры отличаются большой фосфорраствоpяющей способностью.

Культура № 1, выделенная из фосфоритной муки (обр. 1), выявила разницу в количестве растворимой фосфорной кислоты на 679, 82, 293 и 330% по сравнению с контролем; культура № 2, выделенная из фосфоритной муки (обр. 2),— на 366 и 123%; культура № 3, выделенная из супесчаной почвы Куреневки (предместья Киева),— на 63, 45, 360, 250, 357, 451 и 45%; культура № 4, выделенная из оподзоленного суглинка Батыевой горы (Киев),— на 83, 5, 45, 103, 340, 566 и 40%; культура № 5, выделенная из тяжелого оподзоленного суглинка Кияновки (Киев),— на 22, 7, 90, 556 и 20%; культура № 6, выделенная из черноземной почвы г. Смелы Киевской обл.,— на 103 и 433%.

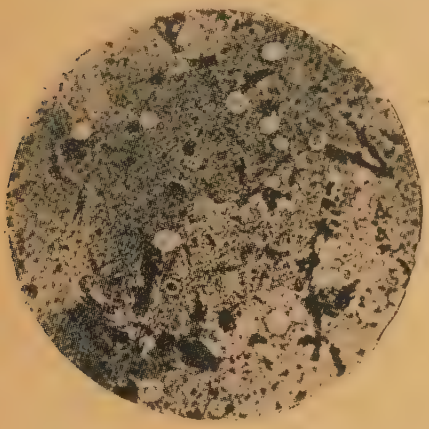

Рис. 1. Семидневная культура микробов, растворяющих $Ca_3(PO_4)_2$ (окрашена по Гимза)

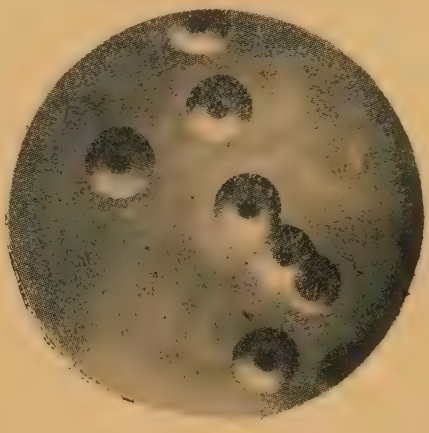

Рис. 2. Колонии семидневной культуры бактерий, растворяющих $Ca_3(PO_4)_2$ (увеличено в 5 раз)

Рис. 3. Развитие овса в сосудах, зараженных микробами, растворяющими $Ca_3(PO_4)_2$. Сосуд № 15—контрольный; сосуды № 6, 7, 11 — зараженные

Для сравнительной оценки фосфорраствоpяющей способности выделенной группы бактерий была параллельно изучена аналогичная способность Azotobacter chroococcum, Clostridium Pasteurianum, Bac. mycoides и нитрифицирующих бактерий 1 и 2-й фаз. Всего было изучено культур Bac. mycoides 5, Azotobacter chroococcum — 5, нитрифицирующих бактерий nitrosomonas — 5, Nitrobacter — 5 и Clostridium Pasteurianum — 5.

Растворимая фосфорная кислота в культурах и в контролях определялась тремя методами: воднорастворимая по Малюгину и Хреновой; растворимая в слабых концентрациях минеральных кислот — по Труогу и в слабых органических кислотах — по Аррениусу. Исследованием, кроме воднорастворимой P_2O_5, еще и фосфатов, растворимых в слабых концентрациях кислот, имелось в виду выяснение наличия в культурах всех форм фосфора, пригодных для питания высших растений.

Из определений воднорастворимой фосфорной кислоты в культурах фосфорраствояющих бактерий Р видно значительное количественное

Таблица 1

Переход $Ca_3(PO_4)_2$ в воднорастворимые соединения в связи с жизнедеятельностью микробов Р, азотобактера, Clostridium Pasteurianum и нитрифицирующих бактерий

№ п/п.	Культура	Воднораствор. фосфорной кислоты в культуре в мг	Разница в воднораствор. P_2O_5 по сравнению с контролем в %
	1. Фосфорраствояющие микробы Р		
1	Контроль—незараженная среда Р	0,66	
2	Среда, зараженная культурой № 1	2,60	+293
3	» » » № 2	3,80	+366
4	» » » № 3	3,64	+451
5	» » » № 4	4,40	+556
6	» » » № 5	4,44	+556
7	» » » № 6	3,82	+433
	2. Azotobacter chroococcum		
1	Контроль—среда Эшби с $Ca_3(PO_4)_2$, незараженная	0,062	
2	Среда, зараженная культурой № 1	0,045	—29
3	» » » № 2	0,051	—18
4	» » » № 3	0,055	—12
5	» » » № 4	0,083	+33
6	» » » № 5	0,056	—10
	3. Clostridium Pasteurianum		
1	Контроль—среда Виноградского для Clostr. Pasteurianum с $Ca_3(PO_4)_2$, незараженная	0,250	
2	Среда, зараженная культурой № 1	0,130	—48
3	» » » № 2	0,067	—74
4	» » » № 3	0,060	—76
5	» » » № 4	0,108	—56,8
6	» » » № 5	0,050	—80
	4. Нитрифицирующие бактерии		
1	Контроль—среда для нитрифицирующих бактерий 1-й фазы с $Ca_3(PO_4)_2$, незараженная	0,054	
2	Среда, зараженная культурой № 1 B. Nitrosomonas и культурой № 1 B. Nitrobacter . .	0,007	—87
3	Среда, зараженная культурой № 2 B. Nitrosomonas и культурой № 2 B. Nitrobacter . .	0,043	—80,4
4	Среда, зараженная культурой № 3 B. Nitrosomonas и культурой № 3 B. Nitrobacter . .	0,007	—87
5	Среда, зараженная культурой № 4 B. Nitrosomonas и культурой № 4 B. Nitrobacter . .	следы	
6	Среда, зараженная культурой № 5 B. Nitrosomonas и культурой № 5 B. Nitrobacter . .	0,007	—87

преобладание по сравнению с контролем (прибавка в 293, 366, 451, 566 и 375%). По сравнению с микробами Р культуры Azotobacter chroococcum, Bac. mycoides, Clostridium Pasteurianum и нитрифицирующих бактерий показали настолько незначительный эффект, что никак не могут быть поставлены в ряд с фосфорраствояющими микробами Р. Эффект их действия по воднорастворимой фосфорной кислоте часто выражен отрицательными числами (для азотобактера —29, —18, —12, —10%; для Clostridium Pasteurianum —48, —74, —76, —56, —80%, для Bac. mycoides —13, 20%, для нитрифицирующих бактерий —37, — 20, —87%). Только в некоторых случаях культуры Bac. mycoides показали прибавку воднорастворимой фосфорной кислоты (табл. 1).

По количеству фосфорной кислоты, растворимой в 0,002 *N* H_2SO_4, Azotobacter chroococcum дает значительную прибавку. Отрицательный эффект по воднорастворимой фосфорной кислоте в культурах азотобактера, повидимому, связан с интенсивным биологическим поглощением P_2O_5 клетками азотобактера, что и послужило основанием для использования этого вида в качестве биологического индикатора на наличие в почве растворимой фосфорной кислоты. Наличие в культурах азотобактера значительных количеств фосфатов, растворимых в 0,002 *N* H_2SO_4, по всей вероятности, можно рассматривать как результат вторичного процесса частичной ретроградации растворимых фосфатов в культуре, связанной с биологическим поглощением азотобактера. Возникшие при этом соединения фосфора тоже, повидимому, годны для питания высших растений. Clostridium Pasteurianum выявил примерно такую же способность к растворению фосфатов, переводя $Ca_3(PO_4)_2$ в соединения, растворимые в 0,002 *N* H_2SO_4. Направление процесса также, повидимому, свидетельствует о значительном биологическом поглощении фосфорной кислоты этими микробами (табл. 2).

Таблица 2

Переход $Ca_3(PO_4)_2$ в соединения, растворяемые в 0,002 *N* H_2SO_4 в связи с жизнедеятельностью Azotobacter Chroococcum и Clostridium Pasteurianum

№ п/п.	Культура	Раствор. P_2O_5 в мг	Разница в раствор. P_2O_5 по сравнению с контролем в %
	1. Azotobacter chroococcum		
1	Контроль—среда Эшби с $Ca_3(PO_4)_2$, незараженная	5,32	
2	Среда, зараженная культурой № 1	11,57	+ 107
3	» » » № 2	10,93	+ 105
4	» » » № 3	7,57	+ 42
5	» » » № 4	11,07	+ 108
6	» » » № 6	7,87	+ 47
	2. Clostridium Pasteurianum		
1	Контроль—среда Виноградского для Clostridium Pasteurianum с $Ca_3(PO_4)_2$, незараженная	0,054	
2	Среда, зараженная культурой № 1	0,382	+ 667
3	» » » № 2	0,273	+ 405
4	» » » № 3	1,366	+ 2430
5	» » » № 4	1,366	+ 2430
6	» » » № 5	0,169	+ 213

Что касается нитрифицирующих бактерий, то количество воднорастворимой фосфорной кислоты в культурах последних значительно ниже контроля. Незначительную лишь прибавку показали лимоннокислые вытяжки. На основании наших данных можно сделать вывод о большом значении для нитрифицирующих бактерий растворимой фосфорной кислоты, и наши наблюдения о значительном биологическом поглощении P_2O_5 нитрифицирующими бактериями меняют взгляд на распространенное в агрохимии представление о прямой зависимости растворимой фосфорной кислоты в почве от количества нитратов. С точки зрения данного микробиологического процесса, эта зависимость становится понятной, если считать оптимальную нитрификацию не причиной, а следствием наличия в почве растворимой P_2O_5.

Степень растворимости $Ca_3(PO_4)_2$ в культурах Bac. mycoides оказалась значительной только для некоторых культур.

Кроме выделения группы микробов, переводящих $Ca_3(PO_4)_2$ в растворимую форму фосфорной кислоты, была сделана попытка выделения из почв и органических удобрений бактерий, растворяющих органические фосфаты. О распространении таких бактерий имеются указания в сообщении Менкиной [1].

Приготовленная нами для указанной цели среда состояла:

дестиллированная вода	—	1000 см³
пептон	—	2 г
NaCl	—	2 „
$MgSO_4$	—	2 „
$MnSO_4$	—	2 „
$FeSO_4$	—	0,1 „

Натриева соль нуклеиновой кислоты — 0,5».

Твердая среда содержала еще 2% агар-агара.

На среде вышеуказанного состава было выделено 6 культур бактерий, минерализующих нуклеиновую кислоту. Они идентичны по основным признакам, и краткая характеристика их приводится.

Рост в жидкой среде представляет собой черный хлопьевидный осадок. На твердой среде культура имеет вид белых слизистых колоний. При микроскопировании выявлены спороносные грамположительные палочки. При учете воднорастворимой фосфорной кислоты в культурах выявлено: для культуры № 1, выделенной из торфа,— 0,293 мг, для № 2, выделенной из навоза,— 0,128 мг, для № 3, выделенной из оподзоленного суглинка Батыевой горы (Киев),— 0,166 мг, для № 4, выделенной из супесчаной почвы Куреневки (Киев),— 0,146 мг, для № 5, выделенной из почвы Кияновки (Киев),— 0,220 мг, для № 6, выделенной из черноземной почвы Смелы Киевской области,— 0,110 мг. В контроле обнаружены следы воднорастворимой фосфорной кислоты.

Дальнейшая работа была направлена к изучению фосфорраствояющей способности вновь выделенной группы микробов Р при заражении активными культурами последних фосфоритной муки, а также почвы с растением. Параллельно для сравнительной оценки изучалась фосфорраствояющая способность азотобактера и нитрифицирующих бактерий в почве с растением.

1. Опыты со стерильной и нестерильной фосфоритной мукой

Чашки Коха с 25 г стерильной или нестерильной фосфоритной муки были заражены активными культурами Р. Инкубация продолжалась 10 дней при 29°. По окончании опытов была определена фосфорная кислота по методу Труога. В результате опытов было выявлено прибавление растворимой фосфорной кислоты для разных культур в 20, 30, 44, 30, 12, 108 и 41% по сравнению с контролем.

[1] Доклад на совещании микробиологов сельскохозяйственной и промышленной микробиологии в Ленинграде.

2. Вегетационный опыт с овсом

В вегетационном опыте изучалась эффективность внесения в почву с растением фосфорраствоpяющих микробов Р на фоне NPK [2]. Параллельно были поставлены опыты с азотобактером и нитрифицирующими бактериями. В оподзоленный суглинок Батыевой горы (Киев) были отдельно внесены культуры Р, азотобактера и нитрифицирующих бактерий. Культуры были внесены в виде суспензии непосредственно в почву при первой поливке до посева растения. Опыт длился два месяца. Критерием урожайности служили весовые количества зеленой массы. О роли нового микробиологического фактора, рассматриваемого во взаимосвязи с полезной микрофлорой почвы, мы судили на основании учета некоторых групп микробов к моменту окончания опытов. Высевом на титры был произведен учет микробов во всех сосудах по группам азотобактера, микробов маслянокислого брожения, нитрифицирующих, аммонифицирующих бактерий и микробов Р. Опыты были заложены в двух повторениях. Результаты представлены в таблицах 3 и 4.

Из приводимых данных видно, что внесение в почву культуры азо-

Таблица 3

Влияние микробов на развитие овса на фоне NP*K в вегетационном опыте

№ сосуда	Условие опыта	Вес зеленой массы при учете урожая в г	Прибавка зеленой массы в %	К-во усвоенной растением P_2O_5 в мг	Прибавка P_2O_5 в %
15	Контроль	1,10	—	32,3	—
10	Сосуд с азотобактером, зараженный культурой № 1	3,20	191	78.0	141,5
9	Сосуд, с азотобактером, зараженный культурой № 2	2,10	91	47,6	47,0
12	Сосуд, зараженный нитрифицирующими бактериями культурой № 1	3,30	200	74,2	129,7
13	Сосуд, зараженный нитрифицирующими бактериями культурой № 3	3,80	245	73,3	127.0
14	Сосуд, зараженный нитрифицирующими бактериями культурой № 2	1,20	9	47,8	48,0
6	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 3	13,5	1 127	533	1 550
7	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 5	7,5	582	135	318
8	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 6	3,5	218	66 5	106
11	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 4	3,0	627	156	383

* Фосфор давался в виде фосфорита.

тобактера оказало положительное действие на развитие растений и тем самым способствовало выносу из почвы значительных количеств фосфорной кислоты. Что касается группового учета бактерий в сосудах, зараженных азотобактером, то заслуживающим внимания является наличие большого числа клеток азотобактера в почве, контроль которой показывает абсолютное отсутствие азотобактера. Это свидетельствует о хорошей приживаемости азотобактера в почвах, совершенно лишенных спонтанной культуры. Заслуживает внимание и тот факт, что с развитием азотобактера количество некоторых групп микробов в почве значительно понижается. Это особенно ярко выражено в отношении нитрифицирующих бактерий, количество которых в одном со-

[2] Фосфор давался в виде фосфорита.

Таблица 4

Учет бактерий в сосудах, зараженных различными видами микробов на фоне NPK в вегетационном опыте

№ сосуда	Условия опыта	Количество микробов в 1 г почвы в тыс.							
		Азотобактер		Cl. Pasteurianum		Нитрифицирующие бактерии		Аммонифицирующие бактерии	Микробы Р в тыс.
		на среде Эшби	на среде Эшби с $Ca_3(PO_4)_2$	на среде Виноградского	на среде Виноградского с $Ca_3(PO_4)_2$	на среде Виноградского	на среде Виноградского с $Ca_3(PO_4)_2$		
15	Контрольный сосуд . .	—	—	1	1	1	1	1 000 000	100
10	Сосуд, зараженный Azotobacter chroococcum культурой № 1 . . .	1 000	10	10	0,1	0,1	0,1	100 000	100
9	Сосуд, зараженный Azotobacter chroococcum культурой № 2 . . .	10	—	1	1	—	—	10 000	10
12	Сосуд, зараженный нитрифицирующими бактериями культурой № 1	—	—	10	0,1	10	1	1 000 000	100
13	Сосуд, зараженный нитрифицирующими бактериями культурой № 3	—	—	10	10	100	0,1	100 000	100
14	Сосуд, зараженный нитрифицирующими бактериями культурой № 2	—	—	10	—	1 000	1 000	1 000 000	1 000
6	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 3	—	—	1 000	1 000	—	—	100 000	1 000
7	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 5	—	—	10 000	1 000	10	—	1 000 000	1 000
8	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 6	—	—	1 000	100	100	—	1 000 000	1 000
11	Сосуд, зараженный микробами Р культурой № 4	—	—	1 000	1 000	10	1	1 000 000	10 000

суде с азотобактером снизилось до нуля, а в другом уменьшилось в десять раз. Падает также, правда в меньшей степени, количество аммонифицирующих бактерий в сосудах, зараженных азотобактером: в одном сосуде в 100 раз, в другом — в 10 раз.

Нитрифицирующие бактерии в опыте показали некоторое положительное влияние на развитие зеленой массы растений, тем самым способствуя извлечению большого количества фосфорной кислоты из почвы.

Учет микрофлоры в сосудах с нитрифицирующими бактериями к моменту окончания опыта подтвердил высокую приживаемость нитрифицирующих бактерий в почве. В контрольном сосуде число нитрифицирующих бактерий к концу опытов составляло 1 000 микробных тел в 1 г почвы, а в сосудах, зараженных нитрифицирующими бактериями, 10 тыс.; 100 тыс. и 1 млн. микробных тел в 1 г почвы.

Особенно ценными как прямым действием на растворимость фосфатов, так и косвенно — стимулированием развития полезной микрофлоры других физиологических групп оказались результаты опытов с фосфорраствоpяющими бактериями Р. В этих опытах отмечается осо-

бенно большое прибавление зеленой массы и, естественно, увеличение количества усвоенной растением фосфорной кислоты. Из 4 примененных культур 3 выявили настолько большую разницу в развитии растения, что вполне возможен вывод о большом практическом значении выделенной группы микробов Р в повышении урожайности растений. По этим опытам разница в количестве зеленой массы в сосудах с бактериями составляет 1 127, 582 и 627%, в то время, как в сосудах с азотфиксирующими бактериями аналогичное прибавление равно 191 и 91%; в сосудах с нитрифицирующими бактериями — 200, 245 и 9% (табл. 3).

Учет физиологических групп бактерий в сосудах, зараженных микробами Р, показал накопление в почве культуры Р. Положительными оказались также результаты в отношении других физиологических групп микробов, особенно микробов маслянокислого брожения и нитрифицирующих бактерий (табл. 4).

В связи с прекращением работ по теме в Киеве с началом войны и возобновлением их в Тбилиси в 1944 г. были дополнительно проведены опыты по выделению фосфорраствоpяющих микробов из грузинских почв и еще из одного образца фосфоритной муки.

На вышеуказанной среде Р были дополнительно выделены фосфорраствоpяющие микробы Р из ишумского фосфорита, из двух образцов краснозема, дигомского бурозема (Тбилиси) и телавского бурозема Телавского р-на. По признакам изменчивости культуры, выделенные из грузинских почв, во многом похожи на культуры, выделенные из украинских почв. Все они проходят цикл развития от коккобациллы до кокка с выраженной зернистостью. Во всех культурах в разные периоды развития выявлены капсулы. Грузинские культуры, за исключением выделенных из краснозема, плохо поддаются культивированию на вышеуказанных лабораторных средах. Наиболее стойкими, с интенсивным желто-бурым пигментом в жидких и твердых средах, оказались культуры, выделенные из двух образцов краснозема. Последние две культуры в отличие от других хорошо развиваются при температуре 36—37°. Фосфорраствоpяющие микробы Р, выделенные из красноземов, значительно распространены в этих почвах и отличаются большой фосфорраствоpяющей способностью. Количественные определения воднорастворимой P_2O_5 в культурах, выделенных из красноземных почв, выявили разницу в воднорастворимой фосфорной кислоте по сравнению с контролем на 1 000 и 650%.

Таким образом, дополнительные работы, проведенные с грузинскими почвами, еще раз подтвердили распространенность в почвах фосфорраствоpяющих микробов Р.

Работа проведена под научным руководством Н. Холодного, в связи с чем считаю приятным долгом выразить ему глубокую благодарность.

Выводы

1. В фосфоритах и почвах распространены бактерии, интенсивно переводящие $Ca_3(PO_4)_2$ в воднорастворимые и растворимые в слабых концентрациях кислот формы P_2O_5. В результате настоящих исследований выделено 10 культур вышеуказанных бактерий.

2. Способность выделенных бактерий к растворению фосфатов значительно превышает аналогичную способность Azotobacter chroococcum, Clostridium Pasteurianum, Bac. mycoides и нитрифицирующих бактерий.

3. В результате настоящих исследований обнаружено значительное биологическое поглощение фосфорной кислоты клетками Azotobacter chroococcum и Clostridium Pasteurianum, что повидимому, является уже вторичным процессом — ретроградации фосфатов этими микробами.

Растворимость биологически поглощенной Azotobacter chroococcum и Clostridium Pasteurianum P_2O_5 в слабых концентрациях кислот свидетельствует о пригодности и этой формы фосфатов для питания высших растений.

4. Нитрифицирующие бактерии выявляют исключительную потребность в растворимых фосфатах, и, следовательно, распространенный в агрохимии взгляд о прямой зависимости содержания растворимой P_2O_5 в почве от количества нитратов должен быть исправлен в том смысле, что оптимальная нитрификация есть не причина, а следствие наличия в почве растворимой фосфорной кислоты.

5. Применяя среду С с нуклеиновой кислотой, удалось выделить из торфа, навоза и 4 почвенных разностей 6 культур бактерий, переводящих нуклеиновую кислоту в воднорастворимые соединения фосфора.

6. Вегетационный опыт с овсом при внесении в почву на фоне NPK активных культур бактерий, растворяющих $Ca_3(PO_4)_2$, а также азотобактера и нитрифицирующих бактерий, показал значительную эффективность применения микробов, растворяющих фосфаты, по сравнению с контролем, азотфиксирующими и нитрифицирующими бактериями (прибавка зеленой массы на 1127, 582, 218 и 627%; увеличение количества усвоенной растением фосфорной кислоты на 1550, 318, 106, 383%).

7. Хорошая приживаемость в почве, благотворное влияние на развитие полезной микрофлоры других физиологических групп и, главное, прямое растворение фосфатов в почве, обусловливающее повышение урожая растительной массы, позволяют считать целесообразным применение микробов, растворяющих фосфаты, в качестве бактериального удобрения. Объектом воздействия могут служить также и труднорастворимые фосфатные удобрения перед внесением их в почву.

Институт микробиологии им. Заболотного
УССР, Киев
Научно-исследовательский санитарный
институт Министерства здравоохранения
Груз. ССР, Тбилиси

Получено 17. VI. 1947

ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА МОРФОЛОГИЮ И ФИЗИОЛОГИЮ МИКРОБОВ

III. ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА ДЫХАНИЕ БАКТЕРИЙ

Н. В. Крупин

В связи с вопросом о механизме действия грамицидина С на микробов значительный интерес представляет изучение влияния данного препарата на ферментативные процессы у бактерий, в частности на связанные с дыханием окислительно-восстановительные реакции.

Исследование влияния грамицидина на дыхание бактерий практически наиболее удобно производить в условиях так называемого аноксибиотического дыхания, т. е. дыхания без доступа свободного кислорода, когда окислительно-восстановительные реакции осуществляются при помощи ферментов дегидраз или дегидрогеназ за счет перехода некоторого количества атомов водорода от окисляемого субстрата — донатора водорода к какому-либо другому, находящемуся в среде веществу — акцептору его.

При таких исследованиях в качестве донатора водорода обычно применяют глюкозу, а в качестве акцептора — метиленовую синь. Достоинством последней является то, что она, восстанавливаясь за счет присоединения атомов водорода, переходит в бесцветное состояние — лейкобазу и, таким образом, служит в то же время индикатором, позволяющим следить за течением окислительно-восстановительных реакций у испытуемых микробов.

Аноксибиотическое дыхание, при котором акцептором водорода служит метиленовая синь, является показателем активности дегидрогеназной системы.

Наши опыты по изучению влияния грамицидина С на дегидрогеназную систему бактерий проводились следующим образом.

К 1 мл трехмиллиардной эмульсии микробов в 0,85% растворе хлористого натра приливался 1 мл раствора грамицидина испытуемой концентрации, такое же количество 1% раствора глюкозы (донатор) и, наконец, 0,1 мл раствора метиленовой сини 1 : 2 000 на фосфатном буфере, pH = 7,0 (акцептор). Мы пользовались несколько более концентрированным раствором метиленовой сини, чем обычно принято в таких опытах. Это было сделано с целью увеличить демонстративность опытов путем удлинения периода обесцвечивания сини. В контрольные пробирки взамен раствора грамицидина приливалось такое же количество 0,85% раствора хлористого натра. Содержимое пробирок после перемешивания заливалось вазелиновым маслом для прекращения контакта с атмосферным кислородом.

Пробирки помещались в термостат при 37°. Результаты реакции учитывались через каждые 10—20—30 мин. в продолжение 5 часов и, наконец, через сутки. Таким образом, устанавливалось время, в течение которого синь обесцвечивалась полностью.

Вначале мы изучали влияние на дыхание бактерий больших доз грамицидина (400 гамм в 1 мл). Опыты производились с 6 культурами стафилококков и 1 культурой Bac. mesentericus. Бактериальные эмульсии готовились из двухсуточных культур.

В табл. 1 представлены результаты 10 таких опытов.

Как видно из этой таблицы, грамицидин С в больших дозах задерживает окислительно-восстановительные реакции как у стафилококков, так и у Bac. mesentericus. Ни в одном из опытов в присутствии 400 гамм грамицидина в 1 мл среды не наблюдалось редукции сини в течение 5 часов, а в 65% она не наступала и через сутки (в таблице эти данные не приведены). В пробирках без грамицидина синь в абсолютном большинстве случаев обесцвечивалась в течение 10—225, в среднем 60 мин. Лишь в 12% случаев не происходило обесцвечивания сини в течение первых 5-часов, но к следующему утру оно обычно все же наступало.

Таблица 1

Влияние больших доз грамицидина на дыхание бактерий

Культура	Условия опыта	№ опыта и время (в мин.), потребовавшееся для полного обесцвечивания метиленовой сини									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Белый стафилококк № 1	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	—	10	80	100	25	45	35	50	60	45
Золотистый стафилококк № 60	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	60	10	45	40	25	50	40	25	50	45
Белый стафилококк № 75	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	—	20	80	—	225	70	35	—	—	—
Золотистый стафилококк № 85	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	60	20	80	165	35	35	30	35	45	20
Золотистый стафилококк № 88	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	—	20	60	150	40	40	40	30	100	80
Белый стафилококк № 98	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	100	10	160	—	45	100	30	45	195	80
Bac. mesentericus № 45	С грамицидином	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Без грамицидина	60	10	—	180	10	135	20	35	—	—

Примечание. Цифры обозначают время в минутах, потребовавшееся в каждом отдельном случае для полного обесцвечивания сини, минусы—отсутствие обесцвечивания в течение 5 часов.

Интенсивность окислительно-восстановительных реакций в отдельных опытах даже у одних и тех же культур значительно колебалась. Мы не могли найти какое-либо объяснение этим колебаниям.

Для более детального изучения влияния грамицидина на дыхание была поставлена серия опытов с различными концентрациями этого препарата — от 6 до 400 гамм в 1 мл, при контроле без грамицидина. Опыты ставились с 3 культурами стафилококков и 1 культурой Bac. mesentericus и были повторены с каждой культурой от 5 до 12 раз. Результаты 16 таких опытов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние различных концентраций грамицидина С на дыхание

Концентрация грамицидина в гаммах в 1 мл	Культура и время в минутах, потребовавшееся для полного обесцвечивания метиленовой сини															
	Золотистый стафилококк № 60				Белый стафилококк № 75				Золотистый стафилококк № 88				Bac. mesentericus № 45			
400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	90	—	—	—	—
100	—	—	—	—	—	—	—	195	—	25	20	110	—	—	—	—
50	90	30	35	—	50	25	—	195	70	25	20	—	—	—	25	210
25	30	30	35	70	20	25	40	165	20	10	20	40	90	—	20	40
12	20	90	20	46	20	70	40	165	10	10	10	30	150	20	45	25
6	20	100	70	110	10	90	40	165	10	10	35	30	—	10	35	25
Контроль	20	25	10	40	20	45	20	120	10	10	10	30	70	20	35	25

Хотя в этой таблице мы не находим абсолютного параллелизма между концентрацией грамицидина и интенсивностью подавления им окислительно-восстановительных реакций, однако наличие связи между

ними все же совершенно ясно. Уже присутствие в среде 6—12 гамм грамицидина несколько замедляет редукцию сини. Это замедление возрастает вместе с увеличением концентрации грамицидина. Но до тех пор, пока содержание грамицидина не превышает 50 гамм в 1 мл, синь все же обесцвечивается в течение нескольких десятков минут. При 100 и более гаммах грамицидина в 1 мл среды обесцвечивание сини в течение первых 5 часов, как правило, не происходит. Оно наступает лишь к утру следующего дня, но и то не во всех случаях.

Мы работали с грамицидином, который при обычном титровании на жидких средах оказывал бактериостатическое действие на наших микробов в дозе 12—25 гамм, а бактерицидное — 50—100 гамм в 1 мл. Сопоставляя эти данные с данными, приведенными в табл. 2, можно заметить, что действие дегидрогеназ наиболее значительно подавлялось лишь в тех пробирках, в которых в каждом миллилитре среды содержалось на менее 1 минимальной бактерицидной дозы грамицидина.

Возникает вопрос, не является ли прекращение окислительно-восстановительных реакций только следствием гибели микробов, вызываемой грамицидином каким-то другим путем, без непосредственного влияния его на дегидрогеназную систему.

Результаты наших опытов позволяют думать, что задержка редукции метиленовой сини в присутствии грамицидина обусловливается не гибелью микробов, а связана с действием грамицидина на дегидрогеназы как таковые или же по крайней мере на процесс образования их в бактериальных клетках. В защиту такого положения можно привести следующие доказательства.

1. В наших опытах с грамицидином С фактически не было совпадения бактерицидного действия этого препарата с задерживающим действием его на окислительно-восстановительные реакции.

Как было указано, наши опыты ставились с концентрированными эмульсиями микробов. По отношению к таким эмульсиям бактерицидные дозы грамицидина, вытитрованные по общеизвестному методу на жидких средах, содержащих небольшие количества микробов, оказывались совершенно небактерицидными. В таких эмульсиях после суточного контакта их с бактерицидными дозами грамицидина при 37° содержалось очень большое количество живых микробов. Несмотря на это, редукция сини в этих эмульсиях отсутствовала.

2. Редукция сини в контрольных пробирках, не содержавших грамицидина, происходила быстро, нередко в течение 10—20—30 мин. В то же время известно, что антибиотики, в отличие от обычных антисептических веществ, убивают микробов относительно медленно, иногда только через много часов. В силу этого в опытных пробирках, в том числе и в тех, в которых содержались большие количества грамицидина, микробы должны были оставаться живыми в течение нескольких часов, во всяком случае в течение десятков минут, что в действительности и имело место. Этот факт многократно подтверждался высевами на плотные питательные среды с количественным учетом результатов.

Если бы дегидрогеназная система у этих микробов не подавлялась грамицидином, то они, оставаясь живыми, редуцировали бы синь приблизительно в такой же степени, как и контрольные эмульсии. Фактически же этого не происходило.

3. Редукция сини задерживалась, хотя и частично, и в тех пробирках, в которых находились заведомо небактерицидные дозы грамицидина (от 6 до 50 гамм в 1 мл). Говорить о гибели микробов в этих пробирках, как о причине задержки редукции сини, нет никаких оснований.

Перечисленные факты, по нашему мнению, определенно говорят о том, что грамицидин способен еще при жизни микробов подавлять

у них действие дегидрогеназ или же тормозить синтез их микробными клетками.

В то же время у нас нет достаточных оснований утверждать, что именно подавление активности дегидрогеназной системы и нарушение окислительно-восстановительных реакций является непосредственной и единственной причиной гибели микробов в присутствии грамицидина.

В дальнейшем мы пытались выяснить вопрос, есть ли разница в действии грамицидина на окислительно-восстановительные реакции у культур различного возраста. С этой целью была проведена серия опытов с одно-, трех-, пяти- и семидневными культурами стафилококков и Bac. mesentericus. Методика опытов аналогична вышеописанной.

В данном случае прежде всего было установлено, что интенсивность дыхания у микробов снижается сама по себе по мере старения культур. Так, одно- и трехдневные культуры без грамицидина обесцвечивали синь в среднем через 45 мин., пятидневные — через 70 мин., а семидневные только через 95 мин. Но мы не нашли зависимости между возрастом культуры и чувствительностью ее дегидрогеназной системы к грамицидину. В одних случаях грамицидин сильнее подавлял окислительно-восстановительные реакции у старых культур, в других — наблюдались обратные отношения.

Таблица 3

Влияние грамицидина на дыхание нормальных и адаптированных к нему микробов

Характер культуры	Содержание грамицидина в гаммах	Название культуры и время в минутах, потребовавшееся для полного обесцвечивания метиленовой сини									
		Стафилококк № 60					Bac. mesentericus № 45				
Нормальная	400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	70	—	—	240	135	—	—	—	20	—
	25	40	—	—	225	55	—	210	—	20	20
	12	25	225	45	225	50	20	—	—	30	—
	6	25	120	30	225	50	10	80	—	10	—
	Контроль	20	90	30	80	40	20	45	45	10	20
Адаптированная	400	20	—	—	30	20	20	—	10	20	20
	200	20	—	—	30	20	10	—	10	30	20
	100	20	90	225	30	20	10	165	20	20	20
	50	20	110	70	30	20	10	80	10	20	20
	25	20	70	210	30	20	10	100	20	20	20
	12	20	70	40	35	20	10	45	20	20	20
	6	20	70	40	30	20	10	70	20	20	20
	Контроль	20	70	25	30	20	20	40	20	20	20

Заключительным этапом нашей работы была серия опытов с культурами, адаптированными к грамицидину путем длительного пассирования их на средах с возрастающими количествами этого препарата. Данная часть работы была проведена с одной культурой стафилококка и одной Bac. mesentericus.

Появление у микробов устойчивости к грамицидину сопровождалось ослаблением влияния последнего на окислительно-восстановительные реакции у них. В большинстве случаев грамицидин значительно слабее задерживал дыхание у адаптированных к нему бактерий, а иногда даже оказывался совершенно неактивным в этом отношении.

В качестве иллюстрации мы приводим табл. 3. В ней представлены результаты 10 опытов, проведенных одновременно с нормальными и адаптированными к грамицидину культурами.

Как видно из этой таблицы, окислительно-восстановительные реакции у резистентных к грамицидину культур протекали в некоторых случаях совершенно одинаково как в присутствии грамицидина, так и без него. В других случаях они хотя и тормозились грамицидином, но всегда в меньшей степени по сравнению с неадаптированными культурами.

Несмотря на некоторую неоднородность результатов опытов, в том числе и не вошедших в таблицу, меньшая чувствительность к грамицидину дыхания у адаптированных к нему микробов бесспорна.

Это обстоятельство косвенным образом говорит о том что грамицидин задерживает окислительно-восстановительные реакции у бактерий, повидимому, не путем воздействия на фермент дегидрогеназу, а путем воздействия на микробную клетку, продуцирующую этот фермент, так как только живая клетка, а не мертвый фермент, может адаптироваться к тем или иным внешним факторам.

Выводы

1. Грамицидин С в больших дозах почти полностью подавляет дыхание у стафилококков и B. mesentericus.
2. Существует определенный параллелизм между концентрацией грамицидина и его угнетающим действием на дыхание бактерий.
3. Достаточно ясной зависимости этого явления от возраста бактериальной культуры установить не удалось.
4. Адаптация бактерий к грамицидину снижает влияние последнего на дыхательную функцию бактерий.

Институт микробиологии и эпидемиологии
и Кафедра микробиологии Медицинского университета
Свердловск

Получено 28. II. 1948

ВИРУСНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ (МОЗАИЧНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ PELARGONIUM SP.)

А. П. Париевская

Вирусные болезни декоративных растений наносят серьезный ущерб цветоводческим хозяйствам. С целью выявления этих заболеваний нами был обследован ряд цветоводческих хозяйств, в результате чего, кроме других заболеваний, была обнаружена мозаичная болезнь герани.

В литературе имеются описания вирусных заболеваний герани. Berkeley [2] описывает курчавость листьев герани и указывает симптомы: закручивание листьев и появление желтых точек с мертвым центром. Часто первыми симптомами являются бледные, хлоротические точки, которые в дальнейшем становятся яркожелтыми, неправильной формы. Передается болезнь прививкой и белой мушкой Trialeurodes vaporarium. Автор указывает, что инкубационный период болезни может длиться до 6 месяцев.

Jones [3] приводит вирус, поражающий герань и вызывающий скручивание, морщинистость, карликовость и крапчатость листьев, карликовость растений в течение зимы и маскировку симптомов в летние месяцы, мозаику, выражающуюся в расцветке листьев с темнозелеными и светлозелеными пятнами, укороченность междоузлий стебля. Вирус передается прививкой. Соком не передается.

Pape [4] описана у герани курчавость листьев, вызываемая Pelargonium virus 1, Pape. Болезнь резко проявляется весной. На черенках наблюдаются округлые или звездовидные светлые пятна. Иногда пятна могут быть кольцеобразны. Листья морщинисты. Часто болезнь при дальнейшем развитии маскируется. Болезнь передается соком и прививкой. У Рыжкова [1] приводятся данные Блатни о мозаике между жилками, резко выраженной у молодых листьев герани и маскирующейся у более старых, и данные Сильвейера о кольцевой пятнистости на листьях герани в Бразилии, которая соком не передается, но, возможно, распространяется трипсом — thrips.

По имеющемуся в нашем распоряжении материалу можно отметить, что в обследованных нами цветоводческих хозяйствах имеются различные типы мозаики герани, сопровождающиеся резкой деформацией листьев. Количество больных растений составляет от 1,1 до 9,8%.

Симптомы заболевания следующие: рост подавлен, междоузлия стеблей сильно укорочены. Из одной точки роста как бы выходит по несколько листьев. Листовые пластинки часто остаются в зачаточном состоянии. Развившиеся листья мелкие, морщинистые, часто гофрированные, пузырчатые. Иногда наблюдается растрескивание листовой пластинки. Черешки больных листьев в большинстве случаев длиннее здоровых.

Об этом же говорят и цифровые данные, приведенные в табл. 1.

Отношение длины черешка к длине листовой пластинки у здоровых будет 1,6; у больных 3,5.

Многочисленные добавочные побеги часто придают растению вид ведьминых метел. У основания стеблей, а иногда и на стеблях пораженных растений образуются довольно крупные вздутия зеленого цвета. Эти вздутия состоят из укороченных побегов, на которых в дальнейшем развиваются листья.

Таблица 1

Сравнительные морфологические данные больных и здоровых растений герани, средние из 20 измерений (в см)

Измерения частей растения	Здоровые растения	Больные растения
Длина листа	5,9	2,9
Ширина листа	8,8	4,1
Длина черешка	7,4	9,0
» междоузлий	2,3	0,8
Высота растений	40,0	26,9

В конце июля вздутия чернеют и погибают. В августе и сентябре месяце этих образований не удалось обнаружить. В первой же половине октября в отдельных случаях их снова можно было наблюдать. На здоровых растениях они не обнаружены.

Дальнейшие наблюдения за состоянием больных растений показали, что маточные пораженные герани не меняли своего внешнего вида до середины мая. На молодых листьях больных маточных растений сорта метеор, находящихся в оранжерее, мы отметили мозаику разных типов, которые и в дальнейшем, по нашим наблюдениям, вели себя различно. Ниже приводим их описание.

1. Расцветка листьев мозаичная. По всей пластинке листа светлозеленые и темнозеленые пятна неправильной формы. Светлозеленые пятна расположены по ходу нервов листа. Листья морщинисты. В конце июня произошла маскировка болезни. Мозаика исчезла. Листья из морщинистых стали гладкими.

В начале августа и на более старых листьях появились небольшие желтые пятна округлой формы с темнозеленым центром. Развившиеся молодые листья имели слабую гофрированность.

Рис. 1. Мозаика второго типа и гофрированность листьев

2. На листьях появляются отдельные небольшие пятна яркожелтого цвета, которые в дальнейшем сливаются в крупные, расплывчатые, неправильной формы, более светлые пятна. Иногда пятна принимают кольцеобразную форму (рис. 1). Листья гофрированные. В конце июня отмечено исчезновение мозаики (маскировка) — листья из гофрированных стали гладкими.

3. По всей пластинке листа, по ходу нервов небольшие желтого цвета пятна. Затем появляются крупные кольцеобразные, яркожелтые, с желтым центром пятна. В дальнейшем между кольцеобразными пятнами появляется ярко выраженная желтая пятнистость — зигзагообразная штриховатость, листья гофрированные (рис. 2).

Рис. 2. Мозаика третьего типа и гофрированность листьев

В середине июня на маточных растениях, находящихся в оранжерее, одни из деформированных листьев приняли нормальный вид, другие же остались уродливыми. Полная маскировка болезни отмечена в середине июля. Листья из деформированных все стали гладкими, сохранив свою прежнюю величину.

Молодые растения, полученные из черенков от больных гераней, имеющих резко выраженную деформацию листьев, вынесенные в парники, сохраняли признаки болезни до половины мая. Во вторую половину мая многие из них приняли нормальный вид. Произошла маскировка болезни. Образование бутонов у больных растений или задерживалось или совсем отсутствовало, в то время как здоровые растения находились в стадии бутонизации.

Искусственное заражение герани соком было произведено в оранжерее № 1 3/II; опытных растений было взято 10, при таком же количестве контрольных — здоровых. Заражение листьев здоровых растений производилось путем натирания их соком пораженных растений герани — с примесью карборунда. Заражения до 15/V не произошло.

Опыт повторен 17/V. Молодые растения, выращенные из черенков здоровой герани, заражались тем же способом — соком больных различной мозаикой листьев и соком листьев, сильно деформированных. Болезнь не проявилась до 15/XI, т. е. в течение 5 месяцев.

Отрицательные результаты искусственного заражения соком дают основание считать, что наблюдаемая нами болезнь герани не способна передаваться соком.

Начиная с 11/IV проводилось искусственное заражение здоровых растений герани прививками клином. Материалом для опыта служили здоровые растения, привезенные из хозяйства № 3, где эти заболевания не обнаружены.

Всего прививок сделано 38, из которых: больное растение на здоровое — 25 прививок, здоровое растение на больное — 13 прививок.

Первые признаки болезни обнаружены у 9 растений, зараженных в период с 11/IV по 23/V. Заражение подвоя в результате прививки больного побега на здоровое растение произошло у 6 растений и у 3 растений заразились здоровые побеги, привитые на больные растения.

У этих растений в конце сентября и в начале октября на отдельных молодых листьях здоровых подвоев и привоев начала образовываться гофрированность и мозаика с темнозелеными и светлозелеными пятнами, с желтоватым оттенком, по всей пластинке листа.

В дальнейшем болезнь продолжала развиваться, и к середине ноября почти все листья зараженных растений имели ярко выраженную мозаику и деформацию — курчавость листовой пластинки.

Проведенные наблюдения за проявлением болезни на искусственно зараженных прививкой растениях герани указывают на длительность инкубационного периода ее — свыше 5 месяцев.

Контролем к опыту с прививками служат 25 здоровых растений герани, привезенных из хозяйства № 3. На этих растениях до 15/XI болезнь не проявилась.

Наблюдения за растениями с более поздними сроками прививок продолжаются.

Обнаруженное нами заболевание герани сорта метеор по симптомам проявления сходно с вирусным заболеванием у герани (Pelargonium sonale) — курчавость листьев, вызываемая Pelargonium virus 1, Pape.

Однако некоторые расхождения с данными Pape, например, 1) наличие зеленых вздутий у основания стеблей пораженных растений, 2) отрицательные результаты искусственного заражения здоровых растений герани соком (в наших опытах), заставляют нас быть осторожными в выводах.

Возможно, что мы имеем два заболевания: 1) резкую деформацию листьев, выраженную в скручивании, морщинистости и карликовости их, сопровождающуюся часто наличием у основания стеблей, а иногда и на стеблях зеленых вздутий, и 2) мозаику различных типов.

Этот вопрос требует дальнейшего изучения.

В заключение приношу глубокую благодарность В. Л. Рыжкову за предложенную работу и за советы и указания в процессе выполнения ее.

Выводы

1. Обнаружены и описаны вирусные заболевания герани.
2. Описанная болезнь герани передается прививкой.
3. Вирусные заболевания герани в наших опытах не передавались соком.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 22.XII.1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыжков В. Л. Фитопатогенные вирусы. 1946 г. Москва — Ленинград.
2. Berkeley G. Leaf curl of geranium. Canad. Hort., v. 59, p. 4, 1938.
3. Jones L. Crinkle and mosaic of geranium. Phytopath., v. 28, p. 1, 1938.
4. Pape H. Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen. Berlin, S. 322—326, 1936.

PROTEUS И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЕГО В ПРИРОДЕ

Н. И. Гамова-Каюкова и *Т. М. Федорова*

В течение семи лет в Центральной санитарно-гигиенической лаборатории Москвы наблюдается более высокая выделяемость по отношению к общему числу обнаруженных условно-патогенных и патогенных микробов бактерий из группы Proteus из объектов, присланных в связи с пищевой токсикоинфекцией. В табл. 1 приведены данные за последние два года. Результаты исследований за предыдущие пять лет приведены нами в опубликованной работе [4].

Таблица 1

Выделяемость Proteus из объектов, присланных в связа с пищевой токсикоинфекцией

Год	Количество образцов	Группа Proteus	Группа Salmonella	Bact. paracoli	Bact. coli	Стафилококки и стрептококки
1946	193	16	7	2	2	0
1947	210	29	3	15	7	0

Только ряду исследователей удавалось классически доказать [2, 6 и др.] этиологическую роль Proteus при той или иной вспышке пищевого отравления; Proteus выделялся из пищевых продуктов, выделений больных; выделенные культуры Proteus агглютинировались сывороткой переболевших. Но эти работы обычно носят исследовательский характер. Практически же эта триада трудно осуществима, так как в лабораторию для исследования не всегда поступает весь необходимый материал. Концепция же о широком распространении Proteus в природе еще довольно распространена среди микробиологов, и поэтому обнаружение его еще недостаточно оценивается при пищевых отравлениях.

Нам представляется, что не широким распространением в природе группы Proteus, как это полагает ряд исследователей (Скородумов [10], Tanner [23] и др.), следует объяснять такое большое количество найденного Proteus по сравнению с другими микробами, вызывающими пищевые отравления, а биологической особенностью данного микроба, приобретенной в процессе эволюции как средство борьбы с другими микроорганизмами. И действительно, ни одному из известных до настоящего времени микроорганизмов не присуща способность образовывать в колонии длинные особи с мощным жгутиковым аппаратом «формы роения» [9]. Ни один из известных подвижных микробов, включая «отличных бегунов», не в состоянии в столь короткое время захватить такое большое пространство питательного агара, как это делает Proteus. Поэтому феномен Щукевича [14] — всползание вверх из конденсационной воды по скошенной поверхности агара — является одним

из диагностических признаков при идентификации Н-форм Proteus. «Роение» или образование «вуали» на чашках и «всползание» в пробирках — явления одного и того же порядка, связанные с образованием коротких, бациллярных форм и длинных подвижных особей (550—100 μ в длину), способных поодиночке или группами выползать из материнской колонии в радиальном направлении на поверхность свежей питательной среды, где они, делясь, превращаются в мелкие клетки, которые способны снова образовывать длинные формы роения. Очевидно, эта стойкая адаптивная функция приобретена группой Proteus в процессе эволюции.

Произведенные нами наблюдения над скоростью всползания 49 культур Proteus, хранившихся в течение двух лет в музее на плацентарном агаре Хоттингера, подтверждают это. Культуры были выделены из пищевых продуктов, кала, воды и почвы. Перевивка их производилась раз в месяц. Культуры хранились при комнатной температуре. 35 культур не только не утратили способности роста в виде Н-формы, но уже через 6 часов всползали из конденсационной воды и покрывали «вуалью» всю скошенную поверхность агара в бактериологической пробирке нормального размера. Остальные 14 культур хотя несколько и отставали в скорости всползания, но через 18 часов также покрыли вуалью всю поверхность агара. Аналогичные результаты были получены при посеве Proteus по методу Russ — Münzer [22] (посев в центр чашки Петри с МПА).

Иначе обстояло с другими подвижными микробами — возбудителями пищевых токсикоинфекций: Bact. suspestifer, Bact. Breslau, Bact. Gärtner, Bact. Paratyphi, Bact. Morgani и факультативными возбудителями пищевого отравления (Bact. paracoli и Bact. coli), сапрофитами (Bact. fluorescens, Bact. prodigiosum) и некоторыми споровыми, имеющими ползучий рост, при посевах их таким же способом. Ни один из указанных микробов не всползал из конденсационной воды до конца скошенной поверхности агара. Обычно развитие происходило в конденсационной воде и видимый рост на агаре не превышал 2 мм, за исключением Bact. prodigiosum и одного вида споровых бактерий, которые хотя и всползали, но только на $^1/_3$ поверхности скошенного агара.

При неблагоприятных условиях существования Proteus vulgaris (на агаре с тетратионатом, с фенолом, желчью и повышенным содержанием NaCl и пр.) образует обособленные О-формы колоний, теряя способность образовывать подвижные формы роения [1]. Но эта способность быстро возвращается при пересевах на питательные среды без ингибиторов, даже при длительном культивировании (8 пассажей). С аналогичными явлениями приходилось нам встречаться (редко) и при выделении Proteus из разных объектов, присланных в связи с пищевой токсикоинфекцией. Выделялись культуры, которые по морфологическим и биохимическим свойствам вели себя, как О-формы Proteus. Но этот признак оказывался нестойким. Достаточно было нескольких пассажей (2—3) в бульоне, и феномен Щукевича являлся характерным и для этих культур. Очевидно, что в нормальных условиях существования для Proteus характерен рост в виде Н-формы. Поэтому, попадая даже в незначительном количестве на пищевой продукт, клетки Proteus, развиваясь циклично, мигрируют, захватывая быстрее других микробов все новые и новые пространства питательного субстрата, обволакивают его «вуалью», состоящей из нормальных клеток и форм роения. Под влиянием же метаболизма бактерий продукт быстро становится непригодным, а иногда и токсичным не только для человека, но и для животных.

Присоединяясь к мнению сторонников, указывающих на роль Proteus в этиологии пищевых токсикоинфекций [3, 6 и др.] в положитель-

[1] Принято считать, что у Proteus существуют две модификации Н- и О-формы. О-форма, сохраняя все видовые особенности Н-формы, неподвижна.

ном смысле, мы попытались применить экологический метод исследования, помогающий установить адаптивные и неадаптивные отношения организмов к окружающему природному комплексу, с целью очертить область естественного местообитания — ареала Proteus.

Экспериментальная часть

Методика исследования

Выделение Proteus из исследуемых объектов производилось на средах накопления (среда Шефера в модификации Скородумова [10]) и по методу Щукевича [14] посевом в конденсационную воду плацентарного агара Хоттингера. Cantu [18] выделял Proteus на мясопептонной желатине.

Пищевые продукты засевались в количестве 1 г или 1 мл на среду накопления. Через 18—24 часа термостатирования при температуре 37° производился пересев по методу Щукевича и на среду Эндо. Выделение чистых культур производилось как из роящихся колоний, так и из колоний с ограниченным ростом, состоящих из грамотрицательных палочек. Одновременно с посевом на среду обогащения производился посев исследуемого об'екта в конденсационную воду по методу Щукевича.

Выделение Proteus из воды осуществлялось посредством фильтрования 100 мл воды через мембранные фильтры, которые затем переносились в склянку со средой Шефера. Параллельно производился засев 1 мл воды по методу Щукевича. Снег предварительно расплавлялся и засевался по методике, принятой нами для воды. Почва и фекалии (кусочки кала обжигались с поверхности) также засевались на среды накопления по методу Щукевича и, кроме того, раскладывались в виде отдельных комочков на чашках Петри с агаром.

При выделении Proteus из разных объектов отмечались случаи, когда методом Щукевича Proteus не обнаруживался, но выделялся после предварительного выращивания на среде накопления (3 образца снега и воды — 2 случая). Таким образом, выяснилось, что при исследованиях экологического порядка, а также и при повседневной практической работе необходимо для выделения Proteus пользоваться как прямыми методами посевов, так и средами накопления.

Распространение Proteus

Hauser [19], открывший впервые Proteus vulgaris в 1885 г., находил его в гниющих субстратах и считал его весьма распространенным микроорганизмом. Того же мнения были и другие исследователи.

Работы Мечникова по изучению этиологии детской диарреи открыли новую страницу в изучении бактерий группы Proteus [7]. Мечникову удалось экспериментально получить аналогичные заболевания после заражения Proteus у обезьян и крыс. В связи с этим в лаборатории Мечникова были проведены работы, посвященные более глубокому изучению роли Proteus в этиологии детских поносов [16, 17], а также исследования экологического порядка (Cantu [18]).

Позднее Bengston [15] на основании литературных данных и Levine [20] указывают, что Proteus не так часто встречается в природе.

Мечников и другие исследователи [5, 7, 11, 12, 13, 16, 17] обнаруживали Proteus в фецес больных от 65 до 100%. Из кала здоровых Proteus выделялся в 8—12% случаев.

Также многочисленны и другие случаи обнаружения Proteus в выделениях больных людей и животных [1, 15]. Proteus выделялся при циститах и нагноении ран, провоцируя подчас тяжелые осложнения в комбинации с другими микробами [15, 16].

Что же касается обнаружения бактерий Proteus в экскрементах здоровых животных, то имеются лишь отдельные указания относительно

найденных бактерий типа Proteus в кишечном тракте кур, лошадей, крыс [14, 15, 18]. Систематических исследований произведено не было. В табл. 2 приводятся наши данные, полученные при исследовании экскрементов животных и пресмыкающихся (52 пробы), взятых из Зоологического московского сада. Данные представляют среднее из нескольких разновременно взятых образцов для исследования.

Таблица 2

Выделенные бактерии типа Proteus из экскрементов животных и пресмыкающихся

Объект исследования	Число проб	Выделено Proteus	Объект исследования	Число проб	
Лев	3	3*	Зебры	3	Не выделено Proteus
Гиена	3	3*	Слон	3	
Зебу	3	1	Обезьяна	4	
Змея Taphrometopon lineobatum	1	1	Верблюд	4	
Черепаха Emys orbicularis L.	2	1	Як	5	
			Коза	5	
			Змея Thyas mucosus L.	2	
			Черепаха Testudo graeca	3	

* Кормление мясом.

Очевидно, что и в кале животных присутствие бактерий типа Proteus — явление не столь частое. Cantu из экскрементов кур, которых кормили мясом, обнаружил Proteus в 66,6% случаев, а при обычном кормлении — 13,3%. Proteus vulgaris нами был выделен из общей кучи свежего коровьего навоза и Proteus mirabilis из куриного помета, а также из сухой земли скотного двора (7 проб) на ферме Сельскохозяйственной академии наук им. Тимирязева.

На табл. 3 сопоставляются наши данные о распространении Proteus в природе с данными Cantu.

Воздух. В воздушной среде Proteus обнаруживается в исключительно редких случаях. Cantu обнаружил Proteus vulgaris один только раз в воздухе лаборатории при исследовании 50 проб и не обнаружил при исследовании воздуха парижских квартир (70 проб). Нами Proteus не был выделен из воздуха закрытых помещений: школ, больниц, родильных домов, читальни и лаборатории, но был выделен два раза из 53 проб атмосферного воздуха при исследовании некоторых микрорайонов Москвы. Proteus vulgaris был одновременно выделен из воздуха школьного двора и прилегающей к нему улицы. В это время поблизости производилась очистка землечерпалками ручья. Гнющие остатки были извлечены на берег и отравляли воздух своим зловонием. Можно было предположить, что Proteus vulgaris с пылинками был принесен сюда ветром. Так же он мог быть поднят ветром из соседнего микробного резервуара — помойной ямы с пылью. Proteus vulgaris был выделен в теплый летний день.

Вода. При исследовании 80 проб питьевой воды Cantu выделил Proteus один только раз. Нами при исследовании питьевой воды в количестве свыше 2 000 проб (из них колодезной 1 075 проб) Proteus vulgaris и Proteus americanus был выделен в 11 случаях (вода из колодцев), причем из одного и того же колодца он был выделен дважды. Проба воды была прислана вследствие вспышки кишечных заболеваний. Остальные колодцы также характеризовались общей загрязненностью в бактериальном отношении (число колоний микробов в некоторых пробах достигало нескольких тысяч в 1 мл); титр групп кишечной палочки

Таблица 3

Распространение бактерий типа Proteus в природе

Объект исследования	Количество проб	Число обнаруженных бактерий	В %	Автор	Место	Год
Воздух атмосферный . . .	53	3	3,7	Гамова-Каюкова и Федорова	Москва	1947
» » . . .	100	0	—	Cantu	Париж	1911
Воздух закрытых помещений: парижские квартиры и лаборатория	120	1 (лаборатория)	0,8	»	»	
Школы, больницы, читальня, лаборатория	80	0	—	Гамова-Каюкова и Федорова		
Пыль	80	0	—	Cantu		
Вода питьевая	80	1	1,25	»		
» колодезная	1 075	11	1,02	Гамова-Каюкова и Федорова		
» речная	126	2	1,5	Они же		
» сточная	32	3	9,3	»		
Пруды	86	1	1,17	»		
Ручей «Синичка» (в черте города)	3	1	33	»		
Ил	9	0	0	»		
Снег улиц и дворов . . .	50	3	6	»		
Почва садовая	52	23	44,2	Cantu		
» садовая и огородная	27	7	25,9	Гамова-Каюкова и Федорова		
» неокультуренная . .	9	0	0	Они же		
» из помойных ям . .	51	12	23,5	»		

не мог быть определен из-за зарастания чашек Proteus. По данным химического анализа, большинство проб из этих колодцев также оказались неблагополучными. Из 126 проб речной воды (в основном Москва-река) Proteus был выделен два раза из воды, которая была взята с омываемых водой ступенек у Павелецкого вокзала.

Из 3 проб ручья Синички в черте города Proteus vulgaris был выделен один раз. Из 32 проб сточной воды Proteus был выделен в 3 случаях из первичного отстойника. При исследовании 86 проб воды из разных подмосковных прудов Proteus был выделен один раз.

Из снега московских дворов и улиц (50 проб) Proteus был выделен в 6% случаев.

Почва. Из 27 проб огородной, садовой почвы разных пригородов, открытых рынков, разных рядов Proteus был выделен в 25,9% случаев (Cantu выделил Proteus из садовой почвы в 44,2% случаев).

Нами при исследовании 51 пробы из разных помойных ям Proteus был выделен в 23% случаев.

Proteus не был обнаружен в неокультуренной почве (4 пробы свежей почвы были взяты в лесу Рублева и Салтыковки и 5 проб сухой почвы из разных мест Союза: Курская область, Стрелецкая степь — чернозем, Чимкент — серозем, Новороссийская область — луговой солончак и Московская область — подзол и смешанный лес).

Имеются указания на отрицательные результаты попыток выделения бактерий типа Proteus в Антарктике [8].

Очевидно, что местообитание бактерий типа Proteus в воде и почве связано с загрязнениями фекального происхождения и гниющими остатками.

Пищевые продукты. В образцах разных пищевых продуктов, поступавших на исследование в порядке санитарного контроля, процент выделяемости бактерий типа Proteus колебался от 0,3 до 4%. На табл. 4 представлены результаты исследования в течение 1947 г. разных пищевых продуктов, из которых был выделен Proteus.

При обследовании производства студня нами было выявлено, что выделяемость бактерий типа Proteus закономерна при плохом санитарном режиме. В таком случае Proteus — обязательный микроб данного производства. Proteus americanus был выделен из двух вагонеток с сырым мясом. Он же выделялся из вареного мяса для переработки. Им же был обсеменен волчок и прочее оборудование данного цеха. Число обнаруженного Proteus americanus в готовых изделиях студня составляло 11,4%. Из 9 образцов пельменей, выпускаемых тем же комбинатом, приготовленных разновременно, Proteus выделен был из 5 образцов. Между тем Proteus — непостоянный спутник сырого мяса. Он выделяется не из всех образцов мороженого мяса. При исследовании 166 образцов колбас и сосисок Proteus vulgaris и Proteus americanus был выделен в 3% случаев. Cantu нашел Proteus в парижских сосисках в 33,3% случаев при исследовании 30 образцов.

Из образцов рыбы разных сортов и кетовой икры Proteus был выделен из незначительного количества образцов (3,1—1,5%). Меланж также является продуктом, из которого бактерии группы Proteus довольно часто выделяются (23,8%). Из 24 проб яичного порошка Proteus не был выделен. Очевидно, он погибал в процессе переработки яиц (табл. 4).

Таблица 4

Бактерии типа Proteus в пищевых продуктах

Объект исследования	Число проб	Обнаруженные бактерии типа Proteus		
		число проб	в %	по данным Cantu, в %
Мясо сырое	2	2	100	100 (мясо испорченное— 22 пробы)
Мясо вареное (полуфабрикат для студня)	11	9	81,8	—
Студень	61	7	11,4	—
Пельмени	9	5	55	—
Колбасы и сосиски разных сортов	166	5	3,07	33,3 (сосиски—30 проб)
Меланж	21	5	23,8	—
Яичный порошок	24	0	0	—
Рыба	29	1	3,1	—
Икра кетовая	67	1	1,5	—
Молоко сырое	92	1	1,08	3,5 (20 проб)
Сыр	7	0	0	15 (20 проб)
Масло	34	0	0	2 (50 проб)

Что же касается молочных продуктов, то из 92 проб сырого молока от индивидуальных молочниц Proteus vulgaris выделен был один раз. Подобные же результаты были получены Cantu при исследовании 200 проб молока: Proteus был выделен в 3,5% случаев. В пастеризованном молоке наших крупных московских комбинатов Proteus не был выделен.

Plähn в своей работе о распространении бактерий типа Proteus в молочном хозяйстве [21] указывает, что Proteus чаще выделяется зимой (стойловое содержание коров), чем летом. Plähn и Cantu часто обнару-

живали Proteus vulgaris в сырах. Cantu при исследовании 20 проб сыра выделил Proteus vulgaris в 15% случаев.

Plähn [21] описывает случаи отравления сыром, в котором был обнаружен Proteus. Им была произведена и описана экспериментальная порча сыра. В масле Proteus был выделен Cantu только один раз из 50 исследованных проб. Нами Proteus не был выделен ни из образцов масла (30 проб), ни из образцов сыра. Объяснение находили в действующих стандартах на эти продукты, по которым обязательна пастеризация сливок и молока.

Картина распространения бактерий типа Proteus на пищевых продуктах была бы неполной без описания случаев обнаружения Proteus на овощах и фруктах. Укажем, что Cantu при исследовании 40 образцов обнаружил Proteus на сельдерее в 17,5% случаев, на салате в 20% (20 образцов), на дынях в 23,3% (30 образцов). Но Cantu не выделил Proteus с винограда, слив и груш. Мечников же выделил Proteus из сахара и с винограда, на которых сидели «навозные» мухи. Cantu не нашел Proteus у комнатных мух парижских квартир, но выделил его у мух, сидевших на навозе или гниющем мясе.

Нами при исследовании картофеля разных сортов и из разных мест Proteus выделен не был.

Очевидно, что почва, на которой растут овощи, применяемые удобрения и окружающие растения условия оказывают влияние и на обсемененность их бактериями типа Proteus.

Обсуждение результатов

Анализируя вышеизложенные данные, приходим к заключению, что Proteus — микроорганизм с ограниченным ареалом распространения — встречается там, где имеются гниющие субстраты, больной человек или животное.

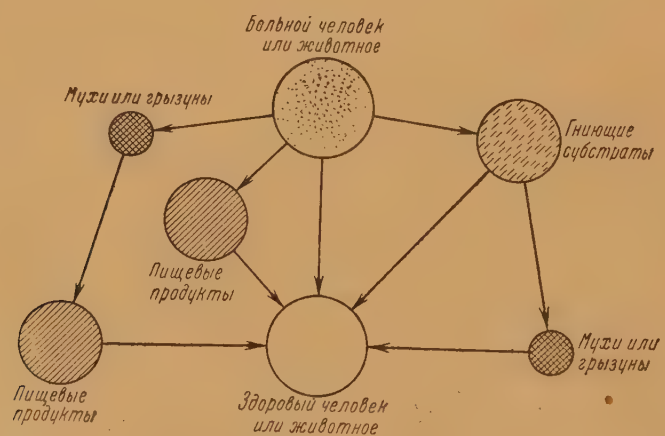

Рис. 1. Схема круговорота Proteus в природе

На основании экологического метода исследования мы относим Proteus к домашним микробам и представляем его круговорот в природе следующим образом: от больного человека или животного через гниющие субстраты животного происхождения, мух или грызунов опять к человеку или к животному (рис. 1).

Выработанная в процессе эволюции у Proteus своеобразная приспособительная функция образовывать подвижные, длинные клетки с мощным жгутиковым аппаратом дает Proteus возможность быстрее других захватывать питательные субстраты при их инфицировании

даже в незначительном количестве. Этим, очевидно, можно объяснить более частую выделяемость бактерий типа Proteus из подозрительных образцов пищевых продуктов, присланных вследствие пищевых токсикоинфекций.

Поскольку очерчен круг распространения Proteus, считаем, что в современных условиях производства готовых пищевых продуктов как на крупных пищевых комбинатах, так и на фабриках-кухнях Proteus не должен обнаруживаться (при обследовании пищевых блоков разных районов, по нашему заданию, включая обследование рук работающего персонала, посуды и оборудования, Proteus обнаруживался исключительно редко). Введение бактериальных нормативов на готовые изделия мясного происхождения (отсутствие Proteus, титр группы кишечной палочки > 10 и ограниченное количество колоний микробов) должно способствовать выпуску доброкачественных продуктов, что снизит число случаев пищевых токсикоинфекций, вызываемых группой Proteus. Опыт родственной молочной промышленности, где уже давно введены бактериальные стандарты, подтверждает правильность высказанного предложения.

Выводы

1. Proteus — лабильный организм, обладающий выраженной способностью к индивидуальному приспособлению и в особенности к функциональной адаптации (образование форм роения с мощным жгутиковым аппаратом).

2. Феномен Щукевича или процесс «роения» указывает на то, что Proteus в процессе эволюции приобрел способность быстрее других микробов захватывать новые пространства питательного субстрата.

3. Экологический метод исследования позволил установить, что Proteus — домашний микроорганизм с ограниченным ареалом распространения (кишечник больного человека и животных, бациллоносители, гниющие субстраты).

4. Более частую выделяемость Proteus, по сравнению с другими условно-патогенными и патогенными микробами, при пищевых токсикоинфекциях следует объяснить не широким распространением Proteus в природе, а скорее функциональной способностью Proteus образовывать длинные особи с мощным локомоторным аппаратом, благодаря чему он быстрее других микробов захватывает все новые и новые пространства питательного субстрата.

5. На основании полученных данных о распространении Proteus считаем необходимым повысить требования к качеству выпускаемых готовых мясных изделий и ввести бактериальные нормативы в отношении наличия бактерий типа Proteus, титра группы кишечной палочки и микробного числа. Введение стандартов будет способствовать предупреждению токсикоинфекций.

Центральная санитарно-гигиеническая лаборатория
Москва

Получено 27. III. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Бердинков А. И. Некоторые виды бактерий аэробного расщепления белков по преимуществу. Из книги Златогоровой О. А., Учение о микроорганизмах, ч. III, стр. 269, Петроград, 1918.
2. Воинов И. И. и Воинова Е. К. Пищевое отравление, вызванное Proteus. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., № 1—2, стр. 20, 1946.
3. Галин И. А. и Родкевич Л. В. К вопросу о роли протея при пищевых токсикоинфекциях. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., № 1—2, стр. 15, 1946.
4. Гамова-Каюкова Н. И. и Федорова Т. М. Характеристика культур Proteus, выделенных из пищевых продуктов. Микробиология, т. XVI, вып. 2, стр. 137, 1947.

5. Горовиц Л. М. (Gorovitz L. M.). Contribution à l'étude du genre Proteus vulgaris. Ann. Inst. Pasteur, No. 7, p. 307, 1916.
6. Каден М. М. и Касьянова Л. К. Пищевые отравления, вызванные Proteus. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., т. XVI, № 2, стр. 275, 1936.
7. Мечников И. И. (Metschnikoff I. I.). Etudes sur la flore intestinale. Les diarées des nourrissons. Ann. Inst. Pasteur, v. 28, No. 2, p. 89, 1914.
8. Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий, стр. 11, Изд. АН СССР, М.— Л., 1947.
9. Пешков М. А. Кариология цикла развития бактерий Proteus vulgaris. Микробиология, т. XV, вып. 2, стр. 99, 1946.
10. Скородумов Л. Н. Пищевые бактотоксикации и токсикоинфекции. Санитарно-научно-исследовательский ин-т им. Эрисмана, Москва, 1941.
11. Тараторина О. М. К вопросу об этиологии токсической диспепсии. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., № 4, стр. 70, 1946.
12. Харабковская Г. Н. Микрофлора кишечника детей, больных токсической диспепсией. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., № 3—4, стр. 98, 1942.
13. Циклинская П. В. К вопросу об этиологии инфекционных желудочно-кишечных заболеваний у детей раннего возраста. Харьковский мед. журн., т. 18, № 7, стр. 281, 1914.
14. Щукевич (Schukevich I.) Etude de la flore bactérienne du gros intestin du cheval. Ann. Inst. Pasteur, v. 25, p. 247, 1911.
15. Bengston. I. The Proteus group of organisms with special reference to agglutination and fermentation reactions to classification. J. Inf. Dis., v. 24, No. 4, p. 428, 1919.
16. Berthelot A. Recherches sur la flore intestinale. Nouvelles données expérimentales sur le rôle pathogène du certaines associations microbiennes. Ann. Inst. Pasteur, v. 28, No. 2, p. 132, 1914.
17. Bertrand D. M. Recherches sur la flore intestinale dans la diarrée des nourrissons. Ann. Inst. Pasteur, v. 28, No. 2, p. 121, 1914.
18. Cantu C. Le bacillus Proteus, sa distribution dans la nature. Ann. Inst. Pasteur, v. 25, p. 852, 1911.
19. Hauser G. Fäulnissbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie. Leipzig, 1885.
20. Levine M. An ecological study of Proteus. J. Bact., v. 43, No. 1, p. 39, 1943.
21. Plähn O. Das Bact. vulgare in der Milchwirtschaft. Ctbl. Bact. Abt. II, Bd. 96, No. 1—4, S. 196, 1937.
22. Russ-Münzer A. Das Schwärmphänomen des Bacillus Proteus. Ctbl, Bact., Abt. I, Bd. 133, S. 214, 1934/35.
23. Tanner T. Food borne infections and intoxications. N. Y., 1933.

РОЛЬ CLOSTRIDIUM PASTEURIANUM КАК ФАКТОРА, ПОВЫШАЮЩЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЗАЦИИ СЕМЯН АЗОТОБАКТЕРОМ

Ю. М. Возняковская

В настоящее время существует мнение, что роль Clostridium Pasteurianum в обогащении почвы азотом очень невелика. Число печатных работ, касающихся изучения этого микроорганизма, незначительно. Слабый интерес к Clostridium Pasteurianum может быть объяснен тем, что Clostridium, как анаэроб, не экономно расходует органическое вещество, давая на единицу потребленного энергетического материала небольшое количество фиксированного азота: по Виноградскому [2], фиксация азота составляет 3,0—2,5 мг на 1 г сахара; Омелянский и Солунскова [5] получили цифры фиксации азота в 1,75—3,00 мг; по данным McCoy, Hibig, Fred [12], Clostridium Pasteuranium в чистых культурах фиксировал 0,66—3,98 мг азота на 1 г израсходованного сахара.

Словом, Clostridium Pasteurianum принимается за мало активную форму, не способную существенным образом влиять на азотный баланс почвы.

Однако судить об азотфиксирующей способности Clostridium Pasteurianum по цифрам, полученным на искусственных питательных средах, и относить это к деятельности его в почве будет не совсем правильно.

Так, Lipman [11], например, указывает, что если средняя фиксация азота клостридием на синтетической питательной среде была 3 мг, то в почве она поднималась до 7 мг. По данным Lantzsch [9], гуматы и некоторые коллоиды оказывают значительное стимулирующее действие на прорастание спор и фиксацию азота клостридием.

В почве деятельность Clostridium Pasteurianum протекает в условиях совместных культур с другими микроорганизмами; это также может оказывать влияние на проявление его жизнедеятельности. Кроме того, есть указание Pringsheim [13] на то, что при небольших концентрациях энергетического материала в субстрате расходование его идет значительно экономнее, чем при больших концентрациях. Такие условия для почвы являются характерными. Следует отметить, что Clostridium Pasteurianum распространен в природе чрезвычайно широко.

В русских почвах Омелянский и Солунскова [5] обнаруживали его почти во всех образцах и в почвах самого различного характера.

Количественный учет анаэробных затруднителен, но по наличию Clostridium Pasteurianum в почве имеются некоторые цифры. Так, Трюффо и Бессонов находили клостридия в почве в количестве более 100 тысяч на 1 г; Drüggeli обнаруживал клостридия до 1 млн. на 1 г почвы.

По действию Clostridium Pasteurianum на высшее растение имеются единичные работы. Freudenreich [7], например, поливая почву культурой Clostridium, не получил положительного эффекта.

Позднее связь между высшим растением и анаэробным фиксатором была обнаружена Truffaut и Bezsonoff [14], которые показали, что кукуруза в асептических условиях песчаных культур хорошо развивается и дает урожай, получая азот только от Clostridium Pasteurianum, который в свою очередь питается корневыми выделениями кукурузы. Возможность накопления азота за счет клостридия в присутствии растения отмечалась и Карпинской [3], при этом накопление азота совместно с азотобактером было больше.

Katznelson [8] в своих опытах наблюдал селективное действие корней кормовой свеклы в отношении Clostridium Pasteurianum. Последний накапливался в ризосфере в количестве 1,4 млн. на 1 г против 50 тыс., которые обнаруживались в почве.

Березова [1] в вегетационных опытах получила повышение урожая льна при внесении Clostridium Pasteurianum по фону NPK. Вещества, входящие в состав продуктов его метаболизма в небольших дозировках, также, по ее данным, влияли положительно.

Целью данной работы явилось, с одной стороны, выяснение влияния Clostridium Pasteurianum на урожай растений при бактеризации семян и, с другой стороны, выяснение его роли как фактора, повышающего эффективность бактеризации семян азотобактером. На жизненность ассоциации клостридия с азотобактером указывал еще Омелянский [4]. Он отмечал, что азотобактер, будучи аэробом, поглощает кислород, создавая тем самым условия для жизнедеятельности клостридия в верхних слоях почвы, богатых безазотистым органическим веществом. Оба вида не требуют связанного азота, что облегчает их ассоциацию по сравнению с другими почвенными аэробами. Кроме того, Clostridium Pasteurianum, сбраживая сахара, образует значительное количество масляной кислоты, которую может использовать азотобактер.

Слизь азотобактера может служить материалом для маслянокислого брожения. По данным Шкляр [6], азотобактер в совместной культуре с Clostridium Pasteurianum размножается значительно интенсивнее, чем в чистой культуре. Это, с нашей точки зрения, представляет интерес при создании лучших условий приживаемости азотобактера на корневой системе растений, а также для получения добавочной фиксации азота атмосферы как за счет клостридия, так и большего числа клеток азотобактера.

Экспериментальная часть

Для того чтобы установить влияние Clostridium Pasteurianum на размножение азотобактера при совместном их культивировании, а также для определения количества фиксированного при этом азота были предприняты лабораторные опыты с чистыми культурами Azotobacter chroococcum и Clostridium Pasteurianum. Опыты ставились в эрленмейеровских колбах с налитой в них высоким слоем жидкой средой Виноградского. Сахар добавлялся в среду в количестве 2% и 0,5%. После заражения колбы выдерживались в термостате при 28° в течение 2 месяцев.

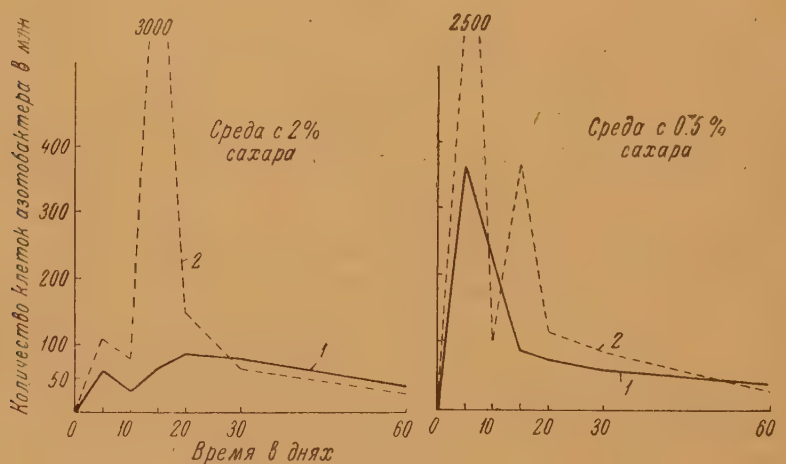

Рис. 1. Размножение азотобактера в чистой культуре и в совместной культуре с Clostridium Pasteurianum.
1 — азотобактер в чистой культуре; *2* — азотобактер в смеси с Clostridium

Размножение азотобактера в чистой культуре и в совместной культуре с клостридием можно проследить по кривым рисунка. Наиболее интенсивное размножение азотобактера наблюдалось между 10-м и 15-м днем при совместном его культивировании с клостридием, в среде с 2% сахара и к 5-му дню в среде с 0,5% сахара.

В чистой культуре размножение азотобактера всегда было слабее, чем в совместной, несмотря на то, что все условия были одинаковы (состав среды, температура инкубации, количество среды, количество посевного материала). Максимум размножения азотобактера в совместной культуре достигал 3 000 млн. против 80 млн. в чистой культуре. В присутствии Clostridium Pasteurianum создаются более благоприят-

ные условия для размножения азотобактера, это, очевидно, связано с накоплением продуктов брожения, в частности масляной кислоты.

Следует отметить, что не во всех параллельных опытах имелось точное совпадение с приведенными кривыми размножения азотобактера, но всегда наблюдалось очень интенсивное размножение к моменту окончания брожения и затем постепенное его снижение.

В связи с процессом сбраживания сахара происходит накопление продуктов брожения и, благодаря этому, подкисление среды.

Снижение pH в среде видно из табл. 1.

Таблица 1

Изменение pH среды в совместной культуре азотобактера и Clostridium Pasteurianum

Вариант опыта	К-во сахара в среде в %	Сроки определения в сутках					
		2	5	10	15	20	30
Azotobacter	2	7,4	7,4	7,2	7,0	7,2	7,4
Azotobacter + Cl. Pasteurianum . .	2	6,4	6,2	6,8	7,0	7,2	7,4
Azotobacter	0,5	7,4	7,2	7,4	7,6	7,6	7,6
Azotobacter + Cl. Pasteurianum . .	0,5	6,4	7,4	7,4	7,6	7,6	7,6

Снижение pH среды до 6,2—6,4 происходит до момента окончания брожения. После того как брожение заканчивается, в среде вновь устанавливается реакция, характерная для монокультуры азотобактера. Весьма вероятно, что это связано с потреблением продуктов брожения азотобактером. Если проследить за исчезновением сахара из питательной среды, то оказывается, что он очень быстро потребляется при брожении в совместной культуре и медленно используется чистой культурой азотобактера, для которого в высоком слое созданы к тому же не вполне благоприятные условия в отношении аэрации (табл. 2).

Таблица 2

Потребление сахара из среды

Вариант опыта	К-во сахара в среде в %	Сроки определения в сутках					
		5	10	15	20	30	60
Azotobacter	2	+	+	+	+	+	—
Azotobacter + Cl. Pasteurianum . .	2	+	—	—	—	—	—
Azotobacter	0,5	+	+	+	—	—	—
Azotobacter + Cl. Pasteurianum . .	0,5	+	—	—	—	—	—

Примечание. + означает наличие; — отсутствие.

Количество связанного азота в среде при совместных культурах азотобактера и клостридия в наших опытах превышало количество азота, фиксированного чистой культурой азотобактера (табл. 3).

Таблица 3

Фиксация азота в совместной культуре азотобактера и Clostridium Pasteurianum в миллиграммах

№ опыта	К-во сахара в среде в %	Время инкубации в сутках	Азотобактер		Азотобактер + клостридий	
			повторность	среднее	повторность	среднее
1	2	20	7,1 9,8	8,35	11,5 —	11,5
2	2	9	2,5 4,0	3,35	10,0 6,1	8,05
3	0.5	20	5,8 —	5,8	6,3 6,9	6,6
4	0.5	9	5,2 —	5,2	8,7 11,5	10,1

Lin и Wilson [10] получили еще бо́льшую прибыль азота в совместной культуре. По их данным, фиксация азота одним азотобактером составляла 6,7 мг, а в совместной культуре с клостридием она достигала 19,5—21 мг.

Усиленное накопление азота совместной культурой может итти как за счет фиксации азота клостридием, так и за счет более интенсивного размножения азотобактера.

Благоприятное действие Clostridium Pasteurianum на размножение азотобактера и накопление азота в среде, выявившееся в опытах с совместными культурами на синтетической питательной среде, побудило испытать его действие на растение в чистой культуре и в смеси с азотобактером.

Вегетационные опыты

Опыты были поставлены с двумя растениями — просом и пшеницей. Почва, употреблявшаяся для вегетационных сосудов, содержала незначительное количество спонтанного азотобактера (180 колоний на 1 г почвы). Семена проса или пшеницы бактеризовались культурой азотобактера и клостридия из расчета 1 млн. клеток бактерий на каждое семячко.

Кроме того, в опыте 1947 г. был добавлен вариант с внесением убитой культуры Clostridium Pasteurianum. Этот вариант был добавлен с целью разграничить результат действия живых клеток Clostridium и действия продуктов его жизнедеятельности.

Результаты учета урожая проса и пшеницы приведены в табл. 4.

Цифры показывают, что внесение одного Clostridium Pasteurianum, а также внесение его совместно с азотобактером оказывает положительное действие на повышение урожая растений.

Отсутствие эффекта от азотобактера в опыте с пшеницей 1947 г. на зерне, возможно, является случайным, так как в этом варианте отмечено прибавление по общему весу растений на 9—14%. Убитая культура Clostridium не влияла на урожайность.

Кроме учета урожая растений, в этих же опытах в течение всего вегетационного периода проводились анализы на наличие азотобактера в ризосфере растений. Результаты приведены в табл. 5.

Таблица 4

Урожай зерна при бактеризации семян азотобактером и Clostridium Pasteurianum

Варианты опыта	Просо 1946 г.			Пшеница 1946г.			Пшеница 1947 г.		
	повторность	среднее	в %	повторность	среднее	в %	повторность	среднее	в %
Контроль	1,85 2,30	2,07	100	3,50 3,15	3,32	100	3,68 3,50	3,59	100
Azotobacter	2,30 2,45	2,37	114	5,50 5,05	5,27	158	3,37 3,77	3,37	100
Cl. Pasteurianum	2,35 2,50	2,42	117	6,00 6,55	6,27	188	4,60 4,88	4,74	132
Azotobacter + Cl. Pasteurianum	2,73 3,45	3,09	148	7,02 7,25	7,13	214	5,12 5,50	5,31	148
Убитая культура Cl. Pasteurianum	—	—	—	—	—	—	3,35 3,92	3,67	101
Azotobacter + убитая культура Cl. Pasteurianum	—	—	—	—	—	—	3,95 4,10	4,02	112

Таблица 5

Количество азотобактера в ризосфере проса и пшеницы (клеток на 1 г почвы)

Вариант опыта	Просо 1946 г.			Пшеница 1946 г.			Пшеница 1947 г.		
	Сроки анализа (в сутках)								
	15	30	60	15	30	60	15	30	60
Контроль	1 000	1 100	700	400	1 250	1 600	16	85	300
Azotobacter	15 500	16 700	14 650	8 100	23 700	4 250	12 900	6 500	7 550
Cl. Pasteurianum	1 000	1 450	700	2 700	1 100	1 000	10	87	100
Azotobacter + Cl. Pasteurianum	27 500	30 500	13 000	3 250	14 100	9 700	11 900	10 100	6 030
Убитая культура Cl. Pasteurianum	—	—	—	—	—	—	12	167	55
Azotobacter + убитая культура Cl. Pasteurianum	—	—	—	—	—	—	21 900	6 400	9 90

Как видно из таблицы, внесение клостридия стимулировало размножение азотобактера в ризосфере проса, но не сказалось на его размножении в ризосфере пшеницы.

При учете количества клостридия методом разведения оказалось, что его несколько больше в вариантах совместно с азотобактером. Механизм действия Clostridium Pasteurianum и его совместной культуры с азотобактером на растение в данной работе не изучался.

Выводы

1. На искусственной питательной среде в совместных культурах Azotobacter Chroococcum и Clostridium Pasteurianum наблюдается усиленное размножение азотобактера, превосходящее его размножение на этой же среде в монокультуре в 2—10 раз. Максимума размножения азотобактер достигает к моменту окончания сбраживания сахара, т. е. к моменту накопления продуктов брожения.

2. Накопление азота в среде при совместных культурах клостридия и азотобактера превышает его накопление чистой культурой азотобактера.

3. В вегетационных опытах бактеризация семян Clostridium Pasteurianum оказывала положительное действие на урожай зерна проса и пшеницы. Убитая культура Clostridium Pasteurianum такого действия не оказывала.

4. Бактеризация семян совместной культурой азотобактера и клостридия оказывала положительное действие на урожай растений в вегетационных опытах. Повышение урожая при бактеризации совместной культурой больше, чем при бактеризации одним азотобактером или одним клостридием.

Московское отделение Института сельскохозяйственной микробиологии

Получено 29. XI. 1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. О роли Amylobacter в развитии льна. Микробиология, т. IX, вып. 9—10, стр. 813, 1940.
2. Виноградский С. Об усвоении свободного азота атмосферы. Архив. биол. наук, т. III, стр. 293, 1895.
3. Карпинская И. К вопросу о влиянии растения на усвоение свободного азота в почве. Изв. с.-х. акад. им. Тимирязева. Сб. памяти Худякова, стр. 121, 1929.
4. Омелянский В. Связывание атмосферного азота почвенными микробами, стр. 136, Петроград, 1923.
5. Омелянский В. и Солунскова М. О распространении азотфиксирующих бактерий в русских почвах. Архив биол. наук, т. XVIII, стр. 433, 1915.
6. Шкляр М. Диссертация, 1946. Ленинград. ин-т с.-х. микробиологии.
7. Freudenreich E. Über Stickstoffbindende Bacterien, Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 10, S. 514, 1903.
8. Katznelson H. The «rhizosphere effect» of mangel on certain groups of soil microorganisms. Soil Sci., v. 62, No. 5, p. 343, 1946.
9. Lantzsch K. Bact. Amylobacter A. M. et Bred. und seine Beziehung zu den Kolloiden. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 54, S. 1, 1921.
10. Lind C. and Wilson P. Nitrogen fixation by azotobacter in association with other Bacteria, Soil Sci., v. 54, No. 2, p. 105, 1942.
11. Lipmann C. and Burgess P. Studies on nitrogen fixation and azotobacter forms in soils of foreign countries. Ctbl. Bact., Abt. II, Bd. 44, S. 481, 1915.
12. McCoy E., Hibig W., Fred E. The assimilation of nitrogen by pure culture of Clostridium Pasteurianum and related organisms. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 76, S. 314, 1928.
13. Pringsheim H. Weiteres über die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 26, S. 222, 1910.
14. Truffaut et Bezsonoff N. Цит. по Шелоумовой и Протодьякочову. Тр. Отд. с.-х. микробиол., т. IV, стр. 41, 1929.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВИРУСНЫХ НИТЕВИДНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ

М. И. Гольдин

Группа английских исследователей в области вирусов растений (Smith, Sheffield, Bawden, Kassanis), начиная с 1930 г., систематически и детально изучала внутриклеточные включения, возникающие у растений, пораженных вирусами мозаики и аукубы мозаики помидоров. Ими отмечалось, что эти два вируса вызывают соответственно различные формы вирусных включений. Таким образом, намечалась перспектива различать близкие между собой вирусы по морфологии внутриклеточных включений. Однако, как мы уже отмечали [1], в процессе дальнейшего изучения этого вопроса эти исследователи (Bawden и Sheffield [4]) отказывались от положения о специфичности ряда внутриклеточных включений. И, наконец, в работе, опубликованной в 1941 г. Kassanis и Sheffield [7] завершают этот круг исследований следующим выводом (стр. 366): «Формы включений имеют весьма малые отличия в зависимости от растения, в котором они находятся, но в основном эти отличия контролируются метеорологическими условиями (количество света и тепла)». Особенно интересна эволюция их взглядов в отношении нитевидных кристаллов. Эти кристаллы первоначально были описаны как характерный признак вируса аукубы мозаики томатов. Согласно Sheffield [8], эта форма кристаллов впервые была отмечена H. Smith в 1930 г. В действительности уже в работе Goldstein [6] за 1926 г. (рис. 15а) мы находим рисунки типичных нитевидных кристаллов.

Kassanis и Sheffield наблюдали нитевидные кристаллы регулярно в 1928—1930 гг. у растений, пораженных вирусом аукубы мозаики помидоров. С 1935 по 1940 г. эти кристаллы не появлялись. И с 1940 г. они снова могли быть обнаружены в большом количестве. При этом авторы указывают, что эти включения возникают у различных растений, зараженных либо вирусом мозаики, либо вирусом аукубы мозаики помидоров. Даже в тех опытах, когда были сделаны заражения различными образцами (зеленая мозаика, желтая мозаика, enation и др.), сохранившимися на протяжении 13 лет, во всех случаях получались однотипные включения. Это обстоятельство и заставило Kassanis и Sheffield искать причину некоторого разнообразия форм включений в зависимости от условий роста зараженного растения. Они детально по годам анализировали метеорологические сводки и пытались найти корреляцию между количеством света и тепла и закономерностью образования нитевидных кристаллов.

В руководстве английского исследователя Bawden [5], выпущенном в 1943 г., значительное место уделено проблеме внутриклеточных вирусных включений. Вместе с тем автором обойден принципиальный вопрос о различии форм включений в пределах группы вируса мозаики помидоров.

Руководствуясь собственными исследованиями, мы исходили из существенного значения этого вопроса.

В опытах 1940/1941 гг. мы обнаруживали нитевидные включения только у растений, зараженных своеобразной формой вируса аукубы мозаики томатов. До 1946 г. эти исследования были прерваны. В 1946 и

1947 гг. многочисленные попытки обнаружить нитевидные включения у табака, томата, петуньи и других растений, собранных из различных мест, не увенчались успехом. У томатов, полученных из Кишенева, Ленинграда, а также у растений, выращенных в открытом и закрытом грунте в 15 овощных хозяйствах Москвы и имевших различные типы мозаичной расцветки, ни в одном случае не были обнаружены нитевидные кристаллы. Ни жаркое лето Кишенева, ни пасмурное холодное лето Москвы в 1946 г., в противовес данным Kassanis и Sheffield, не способствовали появлению этих форм вирусных включений у томатов. Таким образом, очевидно, что соответствующие метеорологические условия не являются руководящей причиной, обусловливающей появление нитевидных кристаллов. Это было доказано также в результате следующих опытов.

У нас сохранялось с 1941 г. гербаризированное томатное растение, в тканях которого в тот период были обнаружены нитевидные включения. Вытяжкой из этого материала (образец № 1) было заражено 5 томатов 23/V 1947 г. Одновременно было заражено 5 томатов вытяжкой из листьев другого растения (образец № 2), также сохранявшегося с 1941 г., у которого, согласно записи, были обычные кристаллы Ивановского. С каждого подопытного растения было сделано по 10—15 срезов с листьев разных ярусов 1/VII 1947 г. для выяснения характера образовавшихся внутриклеточных включений. Следует отметить, что во избежание случайных заражений были осуществлены следующие мероприятия. Посев для этого опыта был произведен семенами, прошедшими противовирусную обработку перманганатом. Затем семена были высеяны в пропаренную почву. За 2 недели до включения в основной опыт сеянцы индивидуально проверялись на отсутствие случайного заражения. Для этого с каждого растения с верхнего, нижнего и среднего яруса бралось по несколько листьев. Листочки растирались в стерильной ступке, и полученный сок наносился на два листочка N. glutinosa. В основной опыт шли партии сеянцев, предварительно проверенные, и в дальнейшем были приняты меры, чтобы по возможности исключить перекрестное заражение вирусом, вызывающим мозаичные заболевания томатов. Эти мероприятия, в отличие от опытов Kassanis и Sheffield, дали возможность получить совершенно четкие и определенные результаты. У 5 томатов, зараженных образцом № 1, были обнаружены нитевидные кристаллы Ивановского, а также, в особенности в клетках волосков ближе к основанию, своеобразная форма кристаллов. Это были вытянутые плоские палочковидные образования со ступенчатыми концами.

Подобные кристаллы закономерно наблюдались в 1940—1941 гг. при заражении аналогичным материалом. Следовательно, этот факт также свидетельствует о том, что образовавшийся у подопытных томатов комплекс включений — не случайное совпадение. Это свойство 6 лет сохранялось в сухом материале и было выявлено независимо от внешних условий при пассировании на томатах в 1947 г.

4/VII 1947 г. было сделано повторно заражение 3 томатов от образца № 1 и, кроме того, 5 томатов были заражены соком от растений, которые были заражены этим материалом 23/V 1947 г. Одновременно в качестве контроля было заражено 18 томатов соком томатов, в тканях которых нитевидных включений не было. У 7 томатов из первых 8 растений 28/VII 1947 г. были обнаружены в большом количестве нитевидные включения. У 18 контрольных ни в одном случае не были обнаружены нитевидные кристаллы. Аналогичные результаты были получены и после дальнейшего пассирования на здоровые томаты. За период с 23/V по 23/X 1947 г. были просмотрены сотни подопытных растений, и нитевидные кристаллы были обнаружены только у растений, у которых источником инфекционного начала являлся образец № 1.

Как уже нами сообщалось [2], при заражении петуньи вирусом мозаики помидоров на листьях получались местные некрозы. И в то же время при многократном испытании на петунье образца № 1 ни в одном случае не наблюдались некрозы. В эпидермисе и в волосках в этом случае были обнаружены нитевидные включения.

Таким образом, циклом исследований, указанных нами, прочно установлено, что характер, форма внутриклеточных вирусных включений даже в пределах группы вируса мозаики помидоров определяется не столько внешними условиями, сколько индивидуальными свойствами данного вируса. Важность этого обстоятельства усугубляется тем фактом, что в ряде случаев тонкие различия между двумя сходными вирусами могут быть установлены пока только «методом включений», только на основании различия форм включений.

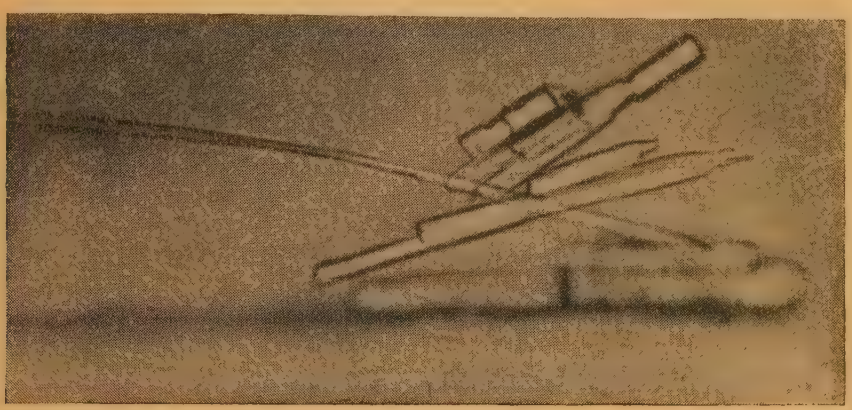

Рис. 1. Включения в клетке волокна больного томата. Длинная нить и группа вытянутых палочковидных включений со ступенчатыми концами

В процессе изложенных исследований обнаружено существенное свойство нитевидных включений. Для типичных кристаллических включений, возникающих у растений, зараженных вирусом мозаики помидоров (кристаллы Ивановского — гексагональные кристаллы), характерны следующие два свойства: 1) эти включения присутствуют одновременно или во всех клетках волоска, или же ни в одной, 2) при наличии этих включений, т. е. при наличии оформленных, видимых в обычный микроскоп агрегатов, не удается обнаружить свободные вирусные частицы в протоплазме. Нитевидные включения могут быть обнаружены (без предварительной обработки) во всех клетках волоска или лишь в нескольких. В данном случае получается некоторая мозаичность в смысле распределения этих включений. Но после обработки 0,1 *N* HCl они появляются дополнительно в тех клетках волоска, в которых включения не были еще обнаружены, и даже во всех клетках ряда волосков, где они вообще не наблюдались. В клетках, где имелись нитевидные включения и до обработки, после обработки можно наблюдать дополнительно появление подобных включений и иногда в большом количестве. Этими свойствами нитевидные включения отличаются также и от кристаллических включений, возникающих у растений, пораженных вирусом мозаики озимой пшеницы [3]. При этом заболевании, как известно, без соответствующей обработки включения не обнаруживаются.

Таким образом, при заражении вирусом, содержащимся в образце № 1, в одной клетке одновременно сосуществуют: кристаллы Ивановского, нитевидные кристаллы, видимые без обработки, и вирусные частицы, которые выявляются после обработки 0,1 *N* HCl в виде нитевидных образований. Они могут быть выявлены также и после обработки

срезов 33% сахарозой, 20% сернокислым аммонием и, повидимому, в результате ряда других воздействий.

Исходя из характера их проявления, можно было предположить, что они уже как бы предсуществуют в оформленном виде и под воздействием различных реактивов становятся лишь лучше видимы. Например, можно наблюдать, как у видимой части нити после обработки 0,1 *N* HCl начинает выявляться как бы продолжение — нить становится длиннее. Наряду с этим появляются также и новые нити в той же клетке. Для выяснения этого вопроса мы применили фазово-контрастный микроскоп, поляризационный микроскоп и «темное поле». Всего было просмотрено 70 срезов. Методика опытов была следующая. Срезы листьев томата просматривались в обычный микроскоп. Зарисовывались волоски и содержащиеся в них включения. Затем эти срезы просматривались с помощью указанных оптических приборов. Как известно, при использовании «темного поля» достаточно даже незначительных различий в преломляющей способности, чтобы выявить тонкие структуры на темном фоне. При применении поляризационного микроскопа мы исходили из того факта, что нитевидные включения являются анизотропными.

В поле зрения фазово-контрастного микроскопа видимые в обычный микроскоп включения выглядели резко очерченными. В ряде случаев у мозаичных томатов нами были обнаружены своеобразные ребристые кристаллические включения. У этих включений с помощью фазово-контрастного микроскопа были выявлены тонкие детали. Но все указанные выше оптические методы без дополнительной обработки не дали возможности обнаружить новые нитевидные или какие-либо другие включения, помимо видимых в обычный микроскоп. Следовательно, в данном случае вирусные частицы одновременно находятся в двух фазах: часть вирусных частиц распределена в протоплазме и другая часть сконцентрирована в виде нитевидных включений. Переходных форм обнаружить не удалось, если они вообще существуют, причем первая фаза после обработки переходит во вторую. Таким образом, механизм образований нитевидных кристаллов принципиально отличается от способа отложения, например кристаллов Ивановского.

Так как нитевидные включения и кристаллы Ивановского могут одновременно находиться в одной клетке, то, очевидно, что отмеченные между ними различия определяются не столько гетерогенностью свойств протоплазмы хозяина, сколько индивидуальными свойствами вирусов, с которыми связано образование этих включений. Отсюда и разнообразие путей, по которым идет формирование внутриклеточных включений.

Выводы

1. Утверждение Sheffield и Kassanis о том, что различия в морфологии вирусных включений в пределах группы вируса мозаики томатов определяются метеорологическими условиями, оказалось ошибочным.

2. Нашими опытами установлено, что нитевидные включения возникают лишь в результате заражения растения специфическим вирусом.

3. Обнаружены принципиальные различия в поведении вирусных частиц, с которыми связано образование кристаллов Ивановского и нитевидных включений в растительной клетке.

4. Вирусные частицы, образующие нитевидные включения, одновременно находятся внутриклеточно в двух фазах: часть вирусных частиц распределена в протоплазме и другая часть сконцентрирована в виде нитевидных включений.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 15. III. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Гольдин М. Исследование включений, возникающих при мозаичных заболеваниях томатов. Тр. совещания по вирусным болезням растений, стр. 36, 1941.
2. Гольдин М. О реакции петуньи на вирус мозаики помидоров. Микробиология, т. XVII, стр. 290, 1948.
3. Сухов К. Особенности двух вирусов злаков и их переносчиков. Микробиология, т. XI, вып. 4, стр. 160, 1942.
4. Bawden F. and Sheffield F. The intracellular inclusions of some plant virus diseases. Ann. Appl. Biol., v. 24, No. I, p. 102, 1939.
5. Bawden F. Plant viruses and virus diseases. 1943, Waltham.
6. Goldstein B. Cytological study of the leaves and grawing points of healthy and mosaic diseased tabacco plants. Bull. Torrey Bot. Club., v. 53, No. 8, p. 499, 1926.
7. Kassanis B. and Sheffield F. Variations in the cytoplasmic inclusions induced by three strains of tobacco mosaic virus. Ann. Appl. Biol., v. 28, No. 4, p. 360, 1941.
8. Sheffield F. The formation of intracellular inclusions in solanaceous hosts infected with aucuba mosaic of tomato. Ann. Appl. Biol., v. 18, No. 4, p. 471, 1931.

ПРОСТОЕ ПРИСПОСОБЛЕНИЕ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

В. А. Замков

Флуоресцентная микроскопия применяется в настоящее время как для диагностических, так и для исследовательских целей [1]. Для нее нужен мощный источник ультрафиолетовой радиации, специальные светофильтры, оптика и предметные стекла из кварца или увиолевого стекла. Высокая стоимость аппаратуры часто мешает широкому распространению этого многообещающего метода. Между тем почти все диагностические и многие научно-исследовательские задачи могут быть с успехом решены с помощью легко осуществимой флоуроесцентной микроскопии в видимом свете [2, 3]. Свечение веществ, флуоресцирующих зелеными, желтыми и красными лучами, может возбуждаться не только под влиянием ультра-фиолетового, но и под влиянием синего и фиолетового света. При использовании вторичной флуоресценции (т. е. получении ее в результате обработки препаратов соответствующими флуорохромами) можно в большинстве случаев подобрать краситель таким образом, чтобы цвет флуоресценции оказался в избранных пределах. Отсутствие в наблюдаемой картине синих и фиолетовых цветов не имеет существенного значения. Для наблюдения флуоресценции подобного типа применяется метод скрещенных светофильтров, легший в основу флуоресцентной микроскопии в видимом свете. Светофильтром, помещенным между источником и микроскопом, вырезается только часть спектра, служащая для возбуждения флуоресценции; второй светофильтр выбирается таким образом, чтобы он пропускал все цвета, кроме проходящих через первый светофильтр, и помещается где-либо после препарата, чаще всего на окуляре микроскопа. В отсутствие объекта свет через установку проходить не будет, так как все лучи, пропускаемые первым светофильтром, будут поглощаться вторым. При помещении на предметный столик флуоресцирующего препарата свет флуоресценции пройдет через окулярный светофильтр и будет хорошо виден наблюдателю.

Для флуоресцентной микроскопии в видимом свете достаточно иметь обыкновенный микроскоп со стеклянной оптикой и предметными стеклами, сильный источник видимого света, вроде лампы для микроскопирования с фокусирующейся коллекторной линзой или вольтовой дуги, имеющейся в любом физическом кабинете, и два светофильтра, сине-фиолетовый и желтый, подобранные так, чтобы они, сложенные вместе, не пропускали видимого света. Вся установка может быть собрана собственными силами в несколько часов. Основное затруднение представляет подбор светофильтров, так как большинство синих и сине-фиолетовых стекол пропускают красный свет, препятствующий наблюдениям. Применение жидкого светофильтра позволяет легко избавиться от этого недостатка.

Установив микроскоп и осветитель и наладив освещение по схеме Келера, надевают на окуляр желтый светофильтр и ставят между микроскопом и осветителем кювету для жидкого светофильтра. В качестве окулярного светофильтра можно применить фотографические светофильтры, темножелтый № 3 или светлооранжевый № 4. Удобны

светофильтры от камер ФЭД, так как они хорошо держатся на окуляре микроскопа. Для приготовления синего фильтра поступают следующим образом. В насыщенный раствор медного купороса добавляют крепкий 25% аммиак в избытке, до растворения выделившегося при этом осадка. Наливают полученный раствор в кювету и разбавляют его дестиллированной водой до тех пор, пока в поле зрения не станут заметны первые следы света. Тогда добавляют в кювету еще несколько капель концентрированного запасного раствора. Если при разбавлении начнется выпадение осадка гидрата окиси меди, то его надо снова растворить прибавлением небольшого избытка аммиака.

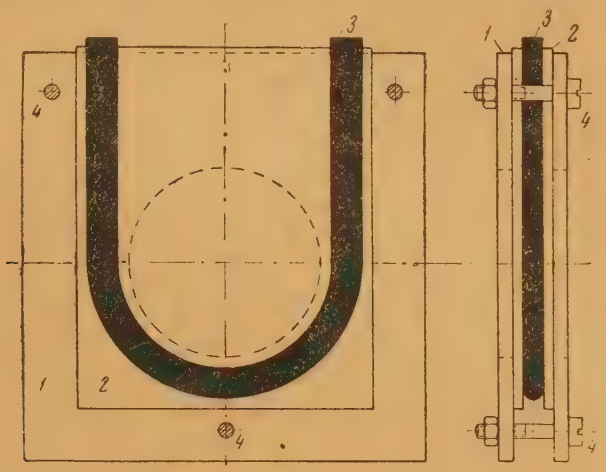

Рис. 1

Так как подходящей кюветы может не оказаться, то привожу устройство самодельной, применявшейся в ранние годы микрофотографии.

В двух прямоугольных деревянных или эбонитовых дощечках *1* прорезаются круглые отверстия. На одну из них кладут кусок зеркального стекла или отмытую от эмульсии фотопластинку *2*. На нее помещают изогнутый, как показано на рисунке, кусок резиновой трубки *3*. На последнюю — второе стекло и вторую дощечку. Все вместе стягивается тремя винтами или шурупами *4*. Такая кювета может иметь толщину 2—5 мм, в зависимости от резиновой трубки, легко чистится и может быть изготовлена в несколько минут.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 12. V. 1938

ЛИТЕРАТУРА

1. Мейсель М. Флуоресцентная микроскопия и ее применение в микробиологии. Микробиология, т. XVI, вып. 6, 1947.
2. Мейсель М. и Заварзина Н. Флуоресцентно-микроскопические наблюдения над живыми клетками микроорганизмов. Микробиология, т. XVI, вып. 5, 1947.
3. Keller Ch. Vereinfachter Nachweis von Tuberkelbazillen im Fluoreszenzlicht. Münch. mediz. Wschr., N. 52, S. 2027, 1938.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВОДОРОСЛЕЙ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

(Обзор)

С. В. Горюнова

Основные элементы питания

Несмотря на то, что в настоящее время во многих лабораториях водоросли уже давно культивируются в искусственных условиях, в литературе до сих пор встречается еще очень много неясных и противоречивых указаний по поводу методов их выращивания.

Первым исследователем, попытавшимся, и не без успеха, получить культуры водорослей в лабораторных условиях на минеральной питательной среде, был русский ученый Фаминтцин (1871).

В те годы это было большой новостью, так как даже выращивание высших цветковых растений в водных культурах стало возможным только после работ Кпор (1865, 1868, 1869), незадолго перед тем опубликованных.

Через 20 лет Beijerinck (1890) подтвердил возможность культивирования водорослей в искусственной среде, при использовании воды естественных водоемов с добавлением как органических, так и неорганических соединений. С тех пор многие исследователи вложили немало сил и труда в изучение физиологии питания этой своеобразной группы микроорганизмов.

Среди капитальных работ, посвященных этому вопросу, необходимо отметить Артари (1903), Pringsheim (1946), Успенского, (1925, 1926), Гусевой (1937a, 1937b, 1940, 1941), Успенской (1936), Алеева (1933, 1934, 1936, 1938), Никитинского (1930) и др.

В основном, конечно, методы культивирования водорослей сходны с методами стерильных культур, применяемых обычно в повседневной микробиологической практике, но имеют и целый ряд своих специфических отличий или особенностей, обусловленных скоростью роста этих организмов и своеобразием их процессов обмена.

Дело в том, что, несмотря на присутствие в клетках водорослей хлорофиллоносного аппарата, с примесью тех или других дополнительных пигментов обеспечивающего процессы ассимиляции, столь характерные для всех высших растений, вопрос основной формы питания разных групп водорослей по существу не является ясным и до сих пор.

Опуская в настоящем изложении недостаточно еще убедительные, но безусловно имеющие под собой почву утверждения о том, что все хлорофиллоносные растения в какой-то мере способны к факультативно-сапрофитному питанию, мы можем сказать, что для многих водорослей это бесспорно.

Сам факт нахождения водорослей в сточных водах, обогащенных в сильной степени органическим веществом, или иных не менее загрязненных местах, говорит о возможности проявления подобного типа питания.

Это предположение подтверждается также и всеми теми явлениями совместного сожительства организмов, которые мы наблюдаем в при-

роде. Сюда, конечно, относятся и симбиоз, установленный в лишайниках (Генкель, 1936, 1938), и те случаи постоянного присутствия водорослей в теле некоторых инфузорий и других видов животных и растений (Коссович, 1896; Рейнке, 1903; и др.).

Неоднократно автором (Benecke, 1898, 1908) отмечались случаи прямого паразитизма водорослей, которые они наблюдали не только среди зеленых, но синезеленых, диатомовых, бурых и багряных водорослей.

Прямые исследования по использованию органических веществ чистыми культурами водорослей (Артари, 1903) показали, что виноградный сахар, пептон, аспарагин, лейцин, глицерин, эритрит, маннит, левулеза, тростниковый сахар, мальтоза, инулин и многие соли органических кислот являются превосходным источником питания для одноклеточных форм многих зеленых водорослей, причем развитие их в равной степени идет хорошо как на свету, так и в темноте. На образовании хлорофилла это часто не сказывается совсем: так, если в темноте клетки окрашены в более желтый цвет, то на свету они быстро зеленеют. Иногда не бывает и этого — зеленый цвет сохраняется все время.

Эти же водоросли прекрасно развиваются на картофельных, мясопептонных, желатинных и сусловых средах. Bristol-Roach (1926, 1928), изучая зависимость между почвенными водорослями и растворенными соединениями углерода, установила, что Scenedesmus costulatus var. Chlorelloides способен расти и в темноте, если к среде прибавлена глюкоза, т. е. она показала, что данный организм, внесенный в почву, может развиваться в глубине, если будет обеспечено снабжение углеродом в подходящей форме.

Skinner и Gardner (1930) доказали, что казеин, альбумин и глюкоза действительно могут служить источником питания при развитии чистых культур зеленых водорослей.

По Dusi (1921), виды Euglena, так же как и Chlorogonium (Loefer, 1935), используют для этой цели аминокислоты. Pringsheim (1912), первый применивший для культур почвенные вытяжки, утверждает, что они стимулируют рост большинства водорослей.

Что касается минерального питания, то в литературе оно представлено в основном рецептами питательных сред, наиболее распространенными из которых являются растворы Knop (1869), Beijerinck (1898), Benecke (1898, 1908), Allen и Nelson (1910), Bristol (1920), Schreiber в модификации Føyn (1934), Lefevre (1937), Craig и Trelease (1937) и др. Описания различных вариантов этих сред представлены в сводных монографиях Kufferath (1929), Mainx (1929).

В принципе эти среды представляют модификации питательных растворов, применяемых для водных культур высших цветковых растений. В отношении концентраций применяемых солей мнения авторов диаметрально противоположны.

Одна группа их придерживается в своих исследованиях исключительно разбавленных растворов, другая, наоборот, очень концентрированных. Так, например:

Раствор Brandwein (1940, 1941) на один литр дестиллированной воды содержит:

1. Difco-Bacto-tryptophane 50—70 мг
2. Поваренной соли 0,003 г
3. Сернокислого магния 0,0045 г
4. Азотнокислого калия 0,0003 г
5. Хлорного железа 0,0002 г
6. Сернокислого кальция 0,03 г

А раствор Craig и Trelease (1937), представляющий собой модификацию среды Варбурга, на 1 л дестиллированной воды содержит:

1. Азотнокислого калия 7,6 г

2. Сернокислого магния ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 14,8 г
3. Однозамещенного фосфорнокислого калия 7,4 г
4. Лимоннокислого калия 8 мг
5. Сернокислого железа ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 8 мг
6. Дополнительный элемент[2] 10 см³.

Многие авторы (Miller, 1938, и др.) считают также, что кальций не является необходимым элементом для питания водорослей, и во многих современных исследованиях (Craig и Trelease, 1937; Pratt, 1940a, 1940b, 1940c, 1944) он при составлении рецептов среды опускается.

Минеральные питательные среды для культивирования водорослей применяются как в твердом, так и в жидком виде.

Для плотных твердых сред используются желатина (Beijerinck, 1890), агар-агар (Тишуткин, 1897; Beijerinck, 1898), кремневокислый гель (Dé, 1939), фильтровальная бумага (Czurda, 1926), стеклянная вата (Iggena, 1938), гипсовые пластинки (Schindler, 1913; Glade, 1914; Fechner 1915), пористая глина (Livingston, 1907), кварцевый песок (Knebel, цит. по Bold, 1942) и т. д.

Кислотность среды

pH среды также играет большую роль при культивировании водорослей в искусственных условиях. Так, по наблюдениям Molisch (1895), одноосновной фосфат калия летален для Spirogyra и некоторых других видов водорослей. Замена его дифосфатом дает прекрасный рост этих же культур.

Pringsheim (1946), Allison, Hoover и Morris (1937) нашли, что для синезеленых форм предпочтительнее слабощелочная среда.

Для некоторых водорослей, например для Navicula (Geitler, 1932), Dunaliella (Baas-Becking, цит. по Bold, 1942), оптимальным pH является 9,0.

Часто исследователи наблюдали различное отношение к pH даже среди представителей одного и того же рода, например, такие случаи зарегистрированы для Euglena (Alexander, 1931; Dusi, 1931; Hall, 1931; Jahn, 1929), Chlamydomonas (Luksch, 1932), Chlorogonium (Loefer, 1935).

Конечно, в экспериментальной обстановке необходимо учитывать возможность вторичного эффекта изменения кислотности среды, вызываемого стерилизацией или неравномерностью использования организмами отдельных компонентов питательного раствора. Иногда это бывает связано даже просто с аэрацией (Damman, 1930). В таких случаях небесполезно применение буферных растворов (Luksch, 1932) или большая тщательность и осторожность при составлении питательной смеси.

Исследования Pratt (1944), например, показали, что среда делается более кислой, если Chlorella использует ионы аммиака, и менее кислой, если утилизирует нитратный азот.

Вода и стекло

Но, несмотря на такие, казалось бы, уже хорошо разработанные методы культивирования водорослей в лабораторных условиях, в противоположность другим группам микроорганизмов, где залогом успеха является хорошо подобранная среда, в данном случае и до сих пор получение нормального роста и развития растений связано с большими затруднениями, часто не поддающимися совершенно сознательному учету исследователя.

[2] Дополнительный элемент — раствор состоит из 1 000 см³ дестиллированной воды, сернокислого цинка ($ZnSO_4.7H_2O$) — 100 мг, борной кислоты — 100 мг, сернокислого марганца — 150 мг и сернокислой меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) — 3 мг.

Поэтому, может быть, до сих пор мы встречаем в литературе указания на то, что причиной гибели организмов может служить лабораторная вода. Исходя из этого, многие авторы предлагают пользоваться водой, вторично перегнанной в аппарате иенского или кварцевого стекла или прошедшей специальную очистку (Livingston, 1907; Allen и Nelson, 1910; Hoyt, цит. по Bold, 1942; Steinberg, 1919).

Вредность обычной воды объясняется ее хлорированностью и прохождением через металлические трубы. Это положение также носит спорный характер, так как многим из нас не раз приходилось наблюдать пышное развитие водорослей в холодильниках Либиха, соединенных с водопроводной сетью и в водопроводных трубах (Исаченко, 1911). Отсюда вредность водопроводных труб весьма относительна и во много раз меньшая, чем дестиллированной воды, получаемой при перегонке с металлическими конденсорами. Что же касается хлорированности, то стерилизация полностью уничтожает этот недостаток (Hoyt, цит. по Bold, 1942). В силу тех же причин не меньшее внимание уделяется и стеклянной посуде, используемой для посевов водорослей. Почти все исследователи подчеркивают важность применения специального стекла. Например, Pringsheim (1946) рекомендует иенское, другие — «pyrex», и только Czurda (1926) нашел возможным использование обычного стекла, подвергнутого предварительно длительному выщелачиванию. Большая работа по испытанию пригодности различных видов стекла для роста водорослей была проделана Ondracek (1935).

Температура

В отношении оптимальной температуры для роста водорослей мнения авторов расходятся. Так, Loefer (1934, 1935a, 1935b) в своих опытах с Chlorogonium поддерживал температуру в 28°. Barker (1935) для Dinofagellates 18—25°, а Hygen (цит. по Bold, 1942), Herbst и Johnstone (1937) выращивали культуры Nematocystus при температуре от 2 до 12°. Температура люминостата должна соответствовать температурному режиму естественного обитания водорослей, но обычно большинство исследователей в своих экспериментах обходят этот вопрос и пользуются комнатной температурой от 18 до 23°.

Аэрация

Не меньшее значение для роста водорослей имеет и аэрация культур, несмотря на то, что, обитая в воде, они являются стационарными, неподвижными формами. В практике это осуществляется или осторожным вращением колбы (Clare и Herbst, 1938), или с помощью аспиратора (Papenfuss, 1935) и других, специально устроенных приборов.

Особенно интересны в этом отношении последние достижения современной физиологии Chlorella (Craig и Trealease, 1937; Trelease и Selsam, 1939; Pratt, 1944), в которых для усиления роста и подкормки, т. е. для стимуляции фотосинтеза, применяется воздушная аэрация культур с 5% содержанием углекислоты.

Прием этот с успехом используется и для ряда других видов водорослей Ketchum и Redfield, 1938).

Освещение

Одним из наиболее сложных моментов при выращивании водорослей в искусственных условиях является освещение.

Несмотря на то, что в природе они свободно и с большой интенсивностью растут на открытом солнечном свету, почти всеми исследователями признается вредность его для лабораторных культур. Наиболее приемлемым в таких случаях является так называемый «северный свет», обычно используемый для экспериментальных работ Dammann, 1930; Kanda, 1936).

Иногда практикуется занавешивание окон шведской фильтровальной бумагой или промасленной папиросной (Roberg, 1930).

Чаще всего используется искусственное освещение при низких температурах. При низких потому, что маленькие сосуды, аккумулируя свет как солнечный, так и обычный электрический, способствуют перегреванию культуры.

Перегревание можно исключить, помещая водоросли в холодные подвалы (Gross, 1931) или применяя стеклянные ванны, наполненные холодной проточной водой (Гусева, 1941; Колесников, 1940) или глицерином (Juller, 1937) и расположенные между источником света и опытными сосудами. Один из вариантов такого люминостата описан Pringsheim (1946).

Экспериментируя в таких условиях, т. е. применяя концентрированные питательные растворы, продувание воздуха с углекислотой и круглосуточное освещение в пять тысяч свечей, Craig и Trelease (1937) получали в течение 4 дней 20 млн. клеток Chlorella и от 100 до 150 млн. за две недели. Ketchum и Redfield (1938), работая с Nitzchia, применяли неоновый свет. Самым лучшим, последним достижением является применение для этих целей прохладных люминесцентных ламп, обладающих большой интенсивностью освещения (Naylor и Gerner, 1940).

Из всего вышеизложенного совершенно ясно, что, несмотря на обширную литературу и достижения последних лет, культивирование водорослей в искусственных условиях представляет еще и до сих пор для исследователя большие затруднения. Слишком большая специфичность этой группы организмов к условиям обитания требует еще большего и детального изучения жизни их вне водоема.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 5. VI. 1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев Б. С. Выделение водорослями органических веществ в окружающую среду. Тр. ВОДГЕО, № 7, 1933.
2. Алеев Б. С. Выделение водорослями органических веществ в окружающую среду. Микробиология, т. III, вып. 4, 1934.
3. Алеев Б. С. и Мудрецова-Висс К. А. Влияние концентрации азотистых соединений на размножение Pediastrum Boryanum. Микробиология, т. V, вып. 4, 1936.
4. Алеев Б. С. Докторская диссертация. Б-ка Ин-та народного хозяйства им. Плеханова, 1938.
5. Артари А. П. К вопросу о влиянии среды на форму и развитие водорослей. Москва, 1903.
6. Генкель П. А. и Южакова Л. А. Азотфиксирующие бактерии в лишайниках. Изв. Пермск. биологического научно-иссл. ин-та, т. X, вып. 1936.
7. Генкель П. А. О лишайниковом симбиозе. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, Серия биологич., т. 47, вып. 1, 1938.
8. Гусева К. А. К гидробиологии и микробиологии Учинского водохранилища канала Москва — Волга. Наблюдения за развитием Anabaena Lemmermanni Richter. Aphanizomenon flos oquar. Breb. и Asterinella forucosa Hassal. Микробиология, т. VI, вып. 4, 1937а.
9. Гусева К. А. Действие марганца на развитие водорослей. Микробиология, т. VI, вып. 3, 1937в.
10. Гусева К. А. Действие меди на водоросли. Микробиология, т. IX, вып. 5, 1940.
11. Гусева К. А. Формы Anabaena Lemmermanni Richt., полученные в культуре (синезеленые водоросли). Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, Серия биологич., т. X, вып. 2, 1941.
12. Исаченко Б. Л. К вопросу о водорослях петербургского водопровода. Тр. С.-Петерб. об-ва естествоиспыт., отд. бот., т. 42, вып. 8, 1911.
13. Колесников П. А. О промежуточных продуктах углеводного обмена у одноклеточной зеленой водоросли. Диссертация. Б-ка Биоотделения АН СССР.
14. Коссович П. С. Исследование по вопросу, могут ли водоросли усвоить свободный азот. Тр. Сибирск. об-ва естествоиспыт., т. XXVI, стр. 28, 1896.
15. Никитинский Я. Я. Stigeoclonium tenue. Тр. Ин-та водоснабжения, № 4, 1930.

16. Рейнке И. Symbiose von Volvox und Azotobacter. Ber. Deutsch. Bot. Ges., Bd. XXI, S. 481, 1903.
17. Тишуткин Н. П. Агар-агар для культивирования некоторых водорослей и амеб. Ctbl. Bact., Abt. II, Bd. 3. S. 183, 1897.
18. Успенский Е. Е. Железо как фактор распределения водорослей. Тр. Ботанического ин-та Моск. гос. ун-та за 1925 г.
19. Успенский Е. Е. Нормальная питательная среда для водорослей и воспроизведение естественных вод. Дневник Всесоюзного съезда ботаников, стр. 175, 1926.
20. Успенская В. И. Физиология питания и развития таллома Stigeoclonium tenue Klebsi. Микробиология, т. V, вып. 1, 1936.
21. Фаминтцин А. С. Die anorganische Salze als ausgezeichnetes Hülfsmittel zum Studium der Entwicklung niederer chlorophyllhaltiger Organismen. Bull. Acad. Sci. St. Petersburg, Bd. 17, S. 31, 1871.
22. Allen E. and Nelson E. On the artificial culture of marine plankton organisms. Mar. Biol. Ass., v. 8, p. 421, 1910.
23. Alexander G. The significance of hydrogen-ion concentration in the biology of Euglena gracilis Klebs. Biol. Bull., v. 61, p. 165, 1931.
24. Allison F., Hoover S. and Morris H. Physiological studies with the nitrogen fixing alga, Nostoc muscorum. Bot. Gaz., v. 98, p. 443, 1937.
25. Barker H. The culture and physiology of the marine dinoflagellates. Arch. Mikrob., v. 6, p. 157, 1935.
26. Beijerinck M. Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen. Bot. Z., Bd. 48, S. 725, 1898.
27. Beijerinck M. Notiz über Pleurococcus vulgaris. Ctbl. Bact., Abt. II. Bd. 4, S. 785, 1890.
28. Benecke W. Ueber Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Z. Bd. 56, S. 83, 1898.
29. Benecke W. Ueber die Ursachen der Periodizität im Auftreten der Algen auf Grund von Versuchen über Bedingungen der Zygotenbildung bei Spirogyra communis. Int. Rev. Ges. Hydrob., Bd. 1, S. 533, 1908.
30. Bold H. The cultivation of algae. Bot. Rev., v. 8, No. 2, 1942.
31. Brandwein P. Preliminary observations on the culture of Spirogyra. Am. J. Bot., v. 27, p. 161, 1940.
32. Bristol B. On the alga-flora of some desiccated english soils: an important factor in soil biology. Ann. Bot., v. 34, p. 35, 1920.
33. Bristol-Roach B. On the relation of certain soil algae to some soluble carbon compounds. Ann. Bot., v. 40, p. 149, 1926.
34. Bristol-Roach B. On the influence of light and of glucose on the growth of a soil alga. Ann. Bot., v. 42, p. 317, 1928.
35. Chodat R. Monographies d'algues en culture pure. 1913. Bern.
36. Clare T. and Herbst C. The life history of Eisenia arboreo. Am. J. Bot., v. 25, p. 494, 1938.
37. Craig F. and Trelease S. Photosynthesis of Chlorella in heavy water. Am. J. Bot., v. 24, p. 232, 1937.
38. Czurda V. Die Reinkultur von Conjugaten. Arch. Prot., Bd. 53, S. 215, 1926.
39. Dammann H. Entwicklungsgeschichtliche und zytologische Untersuchungen an Helgoländer Meeresalgen. Wiss. Meeresunters. Abt. Helgoland, N. F., Bd. 18, S. 1. 1930.
40. Dé P. The rôle of blue green algae in nitrogen fixation in rice fields. Proc. Roy. Soc., v. 127, p. 121, 1939.
41. Dusi H. L'assimilation des acides aminés pour quelques Eugléniens. C. R. Soc. Biol., v. 107, p. 1232, 1931.
42. Fechner R. Die chemotaxis der Oscillariae und ihre Bewegungserscheinungen überhaupt. Z. Bot., Bd. 7, S. 289, 1915.
43. Føyn, B. Lebenszyklus, Cytologie und Sexualität der Chlorophycae Cladophora Suhriana Kützing. Arch. Prot., B. 83, S. I. 1934.
44. Geitler L. Der Formwechsel der pennaten Diatomeen (Kieselalgen). Arch. Prot., Bd. 78, S. 1, 1932.
45. Glade R. Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beitr. Biol. Pfl., Bd. 12, S. 295, 1914.
46. Gross I. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Protophyten. VII. Entwicklungsgeschichte, Phasenwechsel und Sexualität bei der Gattung Ulothrix. Arch. Prot., Bd. 73, S. 206, 1931.
47. Hall R. On certain culture reactions of Euglena. Anat. Rec., v. 51 (abstracts), p. 83, 1931.
48. Herbst C. and Johnstone G. Life history of Pelagophycus Porra. Bot. Gaz., v. 99, p. 339, 1937.
49. Iggena M. Beobachtungen über Wirkung des Lichtes auf das Wachstum von Blaualgen und Grünalgen. Arch. Mikrob., Bd. 9, S. 129, 1938.
50. Jahn T. Studies on the physiology of the euglenoid flagellates. I. The relation of density of population to the growth rate of Euglena. Biol. Bull., v. 57, p. 81, 1929.

51. Juller E. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Protophyten. XIII. Der Generations- und Phasenwechsel bei Stigeoclonium subspinosum. Arch. Prot., Bd. 89, S. 55, 1937.
52. Kanda T. On the gametophytes of some Japanese species of Laminariales. I. Sci. Pap. Inst. Alg. Res. Hokkaido Imp. Univ., v. I, p. 221, 1936. Цит. по Bold (1942).
53. Ketchum B. and Redfield A. Method for maintaining a continuous supply of marine diatoms by culture. Biol. Bull., v. 75, p. 165, 1938
54. Knop W. Über die Redeutung des Eisens, Chlors, Broms, Jods und Natrons als Pflanzennährstoffe. Ber. König. Sächl. Ges. Wiss. Leipzig, Bd. 21, S. 1, 1869.
55. Kufferath H. La culture des algues. Rev. Alg., 4, H. 7, 1929.
56. Lefevre M. Technique des cultures cloniques des desmidiées. Ann. Sci. Nat. X, Bot., Bd. 19, S. 325, 1937.
57. Livingston B. Further studies on the properties of unproductive soils. U. S Dept. Agr. Bur. Soils, Bull. 36, 1907.
58. Loefer J. Effect of certain carbohydrates and organic acids on growth of Chlorogonium and Chilomonas. Arch. Prot., v. 84, p. 456, 1934.
59. Loefer J. Effect of certain nitrogen compounds on growth of Chlorogonium and Chilomonas. Arch. Prot., v. 85, p. 74, 1935a.
60. Loefer J. Relation of hydrogen-ion concentration to growth of Chilomonas and Chlorogonium. Arch. Prot., v. 85, p. 209, 1935b.
61. Luksch I. Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Chlamydomonaden. Beih. Bot. Centr., Bd. 50, S. 64, 1932.
62. Molisch H. Die Ernährung der Algen. (Süsswasserlagen. 1 Abhandlung). Sitz. Math. Naturwiss. Classe Kais. Akad. Wiss. (Wien). Abt. I, Bd. 104, S. 783, 1895.
63. Moore G. Methods for growing algae in pure cultures. J. Appl. Microb., v 6, p. 2309, 1903.
64. Naylor A. and Gerner G. Fluorescent lamps as a source of light for growing plants. Bot. Gaz., v. 101, p. 615, 1940.
65. Ondracek K. Über die Brauchbarkeit einiger Glassorten für Algenreinkulturen. Arch. Mikrob., Bd. 6, S. 532, 1935.
66. Papenfuss G. Alternation of generations in Ectocapus siliculosus. Bot. Gaz., v. 96, p. 421, 1935.
67. Pratt R., Daniels T., Eiler J., Gunnison J., Kumler W., Oneto J., Strat L., Spoehr H., Hardin G., Milner H., Smith J., Strain H. Chlorellin, an antibacterial substance from Chlorella. Science, v. 99, No. 2574, p. 351, 1944.
68. Pringsheim E. Pure culture of algae: their preparation and maintenance. Cambridge Eng. At the Univ. Press. New Jw. Macruillan, 1946.
69. Roberg M. Ein Beitrag zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen. Jahrb. Wiss. Bot., Bd. 72, S. 369, 1930.
70. Schindler B. Über den Farbenwechsel des Oscillatoriarien. Bot. Z., Bd. 5, S. 497, 1913.
71. Skinner. C. and Gardner C. The utilization of nitrogenous organic compounds and sodium salts of organic acid by certain soil algae in darkness and in the light. J. Bact., v. 19, p. 161, 1930.
72. Steinberg R. Study of some factors in the chemical stimulation of the growth of Aspergillus niger. Am. J. Bot., v. 6, p. 358, 1919.
73. Trelease S. and Selsam M. Influence of calcium and magnesium on the growth of Chlorella. Am. J. Bot., v. 26, p. 333, 1939.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ: МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Підоплічка М. М. **Нові види грибів на грубих кормах. (Новые виды грибов на грубых кормах).** Мікробіологічний журнал АН УССР, т. IX, № 2—3, стр. 53—63, 1948.

Микрофлора кормов изучена очень неполно. Начиная с 1938 г., автор детально изучал грибную флору кормов разных областей Украины, Молдавии, Башкирии, Северного Кавказа. Среди многочисленных видов грибов, выделенных на грубых кормах, оказался ряд новых, еще не описанных. Эти новые виды и два новых рода изучены автором и описаны. Новые роды: Hyalobotrys Pidopl. и Kurssanovia Pidopl.

Л. Осницкая

Френкель Г. М. **Ослаблені форми Streptococcus lactis. (Ослабленные формы Streptococcus lactis).** Мікробіологічний журнал АН УССР, т. IX, № 2—3, стр. 63—70, 1948.

Суспензия 12 культур Streptococcus lactis, ослабленных прогреванием при 77—88° в течение от 5 до 50 минут, не развивалась на обычно применяемых для культивирования Str. lactis средах (МПА, МПБ, молоко, бульон с 0,5% глюкозы и др.). Ослабленные культуры давали хороший рост на средах, употребляемых для выращивания облигатных анаэробов, как, например, среда Китт-Тароцци, среда с добавлением кислотного гидролизата печени. Особенно хорошо развивались ослабленные формы на полужидких средах — МПБ + 0,15% агара. Добавление кислотного гидролизата печени благоприятно действует как на ослабленные, так и на неослабленные формы Streptococcus lactis.

Изучение динамики окислительно-восстановительного потенциала в процессе роста ослабленных и неослабленных форм показало, что хотя рост ослабленных форм начинается при более низком окислительно-восстановительном потенциале, чем у неослабленных, но кривые изменения окислительно-восстановительного потенциала тех и других форм по существу не отличаются друг от друга. Снижение парциального давления кислорода может способствовать росту ослабленных форм на молоке и других средах.

Л. Осницкая

Медвинська Л. Ю. **Вплив азотистого живлення і ростових речовин на ріст і кислотоутворення Bact. Schüzenbachii. (Влияние азотистого питания и ростовых веществ на рост и кислотообразование Bact. Schüzenbachii).** Мікробіологічний журнал АН УССР, т. IX, № 2—3, стр. 129—138, 1948.

Ввиду того, что при выращивании Bact. Schüzenbachii на обычно применяемой для этой цели среде Henneberg в целом ряде случаев получалось снижение кислотообразования по сравнению с контролем (сусло + 3% спирта), были проведены опыты по подбору оптимальной минеральной среды. Из всех испытанных сред лучший рост и кислотообразование были получены на среде следующего состава: $(NH_4)_2SO_4$ — 3 г, KH_2PO_4 — 1 г, K_2HPO_4 — 0,1 г, $MgSO_4$ — 0,4 г, NaCl — 0,1 г, спирта — 3% на 1 000 см³ дестиллированной воды. pH среды = 6,5—6,7. На этой среде уксуснокислые бактерии выдерживали 58 пересевов без снижения активности. Замена аммиачного азота азотом нитратов или нитритов давала резкое замедление роста Bact. Schüzenbachii и снижение количества образующейся уксусной кислоты. При использовании в качестве источников азота аминокислот — гликоколя, аланина, аргинина, тирозина,— наилучший рост и кислотообразование были отмечены на среде с аргинином, в то время как аланин сильно задерживал рост культуры. Добавление ростовых веществ или близких к ним химических соединений (аскорбиновая, пантотеновая, никотиновая, адениловая, пиколиновая, *p*-амино-бензойная кислоты, пиримидин, рибофлавин и др.), а также аминокислот в количествах 4 γ на 1 см³ не оказывало никакого влияния на кислотообразование культуры, хотя некоторые из испытанных веществ (пантотеновая, адениловая и пиколиновая кислоты, витамин B_1) стимулировали рост бактерий.

Л. Осницкая

Ліберман Л. А. **Вплив сивушних олій на кислотоутворюючу здатність оцтовокислих бактерій швидкого виробництва оцту. (Влияние сивушных масел на кислотообразующую способность уксуснокислых бактерий быстрого производства уксуса).** Мікробіологічний журнал АН УССР, т. IX, № 2—3, стр. 138—142, 1948.

Установлено, что примесь к суслу сивушных масел в концентрации 0,5—0,8% оказывает неблагоприятное действие на рост уксуснокислых бактерий: пленка выростала лишь отдельными островками и с большим запозданием по отношению к контролю (на 5—7-й день вместо 2—3-го дня). Сильно сказывалось действие сивушных масел и на морфологии клеток — наблюдались сильно раздутые формы, укороченные палочки и т. д.

Наряду с этим отмечалось резкое снижение кислотообразования культур, а при концентрации сивушных масел в 0,8% кислотообразование совсем приостанавливалось.

Незначительная примесь сивушных масел (0,05—0,1%) не оказывала заметного влияния на рост и морфологию бактерий. Однако все же сказывалась на кислотообразовании культур, задерживая и снижая его по сравнению с контролем.

Л. Осницкая

Рубенчик Л. И. **Мікробіологічне дослідження води мінерального джерела та лікувальної грязі Красноусольска (БАССР) [Микробиологическое исследование воды минерального источника и лечебной грязи Красноусольска (БАССР)].** Мікробіологічний журнал АН УССР, т. VIII, № 2—3, стр. 7—14, 1946.

Изучалось микробиологическое население воды минерального источника и лечебной грязи, находящихся вблизи г. Красноусольска. Вода минерального источника содержит различные физиологические группы, неодинаково относящиеся к концентрации NaCl. К автохтонной группе относятся сульфатредуцирующие, денитрифицирующие, маслянокислые и анаэробные целлюлозные бактерии. К аллохтонной группе относятся аммонифицирующие, тионовокислые и аэробные целлюлозные бактерии. Общее количество микроорганизмов в 1 см³ колебалось для разных грифонов от 1 720 до 8 100. Количество микроорганизмов в 1 г грязи достигает $550 \cdot 10^6$. По своим физиологическим группам эта грязь сходна с солено-озерными лечебными минеральными грязями и содержит в основном сульфатвосстанавливающие, тионовокислые и аммонифицирующие группы микробов.

Л. Осницкая

Непомняща М. Л., Ліберман Л. А. и Медвинська Л. Ю. **Явища бактеріофагии в молочний промисловости (Явления бактериофагии в молочной промышленности).** Мікробіологічний журнал, т. IX, № 2—3, стр. 34—48, 1948.

Нарушение процесса молочнокислого брожения объяснялось разными причинами (авитаминоз, микробный антагонизм и др.), из которых в настоящее время считается наиболее экспериментально доказанным бактериофагический лизис культур закваски. Актуальность проблемы и небольшое число работ, посвященных этому вопросу, вызвали необходимость проведения настоящего исследования.

Отбирались пробы сырого молока. После скисания молока пробы фильтровались через бумажный фильтр, а затем через фильтр Зейтца. 1 см³ профильтрованной сыворотки вносился в 9 см³ мясо-пептонного бульона (с 0,5% глюкозы), и туда добавлялись 1—2 капли 12—14-часовой бульонной культуры молочнокислых бактерий: Str. lactis, Str. cremoris, Str. citrovorus, Str. paracitrovorus. Посевы выдерживались при 28°. Уже через 4—6 часов наблюдалось прояснение бульона, что говорило о наличии бактерисфага. Проверка производилась методом стерильных пятен (taches vièrges). Таким образом, был обнаружен бактериофаг в 92% исследованных проб. Многолетнее исследование показало, что хотя феномен бактериофагии у молочнокислых стрептококков под действием сырого молока наблюдается в течение целого года, но весной бактериофаг обнаруживается в большем числе проб молока и наблюдается лизис большего числа штаммов молочнокислых стрептококков. Выяснено, что процесс бактериофагического лизиса обусловлен количеством культуры и концентрацией бактериофага: если количество клеток в 1 см³ среды равно 20—40 млн., то процесс лизиса протекает наиболее интенсивно, а при количестве 300—450 млн. в 1 см³ лизис не наступал даже при большой концентрации бактериофага.

Л. Осницкая

Потков Л. А. **Санитарно-эпидемиологическое значение агара Вильсона — Блера и методика его изготовления из советских ингредиентов.** Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, № 2, стр. 84—89, 1948.

Для обнаружения в воде возбудителей тифозно-паратифозной группы обычно применялся висмутсульфитный агар Вильсон — Блера. Однако приготовленный по методике Вильсон — Блера агар не всегда давал удовлетворительные результаты. Поэтому был вновь разработан способ приготовления этого агара. 3 г аммонийной соли лимоннокислого висмута растворяются в 25 см³ кипящей воды. К остывшему раствору добавляется 0,5 см³ 10% NaOH и затем вливается раствор 5 г безводного сульфита натрия в 50 см³ воды. Непосредственно в этот раствор вносится 1,75 г безводного

Na_2HPO_4 и по растворении вливается раствор 5 г глюкозы в 25 см³ воды. Эта основная смесь добавляется к мясо-пептонному агару (20 см³ на 100) непосредственно перед засевом. Кроме того, тотчас добавляется 1 см³ 8% раствора соли Мора и 1 см³ 0,5% раствора бриллиантгрюна.

Пользуясь приготовленным таким методом висмутсульфитным агаром, можно весьма успешно выделять из естественных сточных вод бактерий брюшного тифа и паратифа В.

Л. Осницкая

Кожевникова Т. П. **Типы ботулинических бацилл, выделенных из пищевых продуктов, и их серологическая классификация.** Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, № 5, стр. 58, 1948.

73 штамма ботулинических бацилл, полученных из различных источников, были изучены с точки зрения их серологической классификации.

Проведено исследование штаммов по реакции агглютинации с сыворотками типа А и В разных серологических групп (A_1, A_2, B_4, B_5, B_6).

Из полученных данных очевидно, что по реакции нейтрализации токсина 47 штаммов принадлежат к типу А, 2 — к типу В и 1 — к типу Е. Провести серологическую типизацию токсигенных штаммов ботулинических бацилл с помощью реакции агглютинации не удалось.

Серологическая классификация с помощью реакции Кастелляни со специфической Н-сывороткой может быть использована только для атоксигенных штаммов. Классификация токсигенных штаммов может производиться только на основе реакции нейтрализации токсина типовыми сыворотками.

Л. Осницкая

Лукашева Г. М. **Прорастание спор палочек ботулизма на простых белках.** Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, № 5, стр. 62, 1948.

Освобожденные от вегетативных клеток и токсинов (испытанные на белых мышах) споры ботулинуса высевались на синтетическую углеводную безбелковую среду (1000 см³ H_2O водопроводной, NaCl 0,5 г, глюкозы 2—10 г. K_2HPO_4 — 0,2 г; pH = 7,4—7,6). К этой среде добавлялись альбумины (кровяной, яичный или растительный глобулин в количестве 0,05% или пептон 0,5%).

Определенное количество спор вносилось в 100 см³ среды, и наблюдалось прорастание детоксицированных спор и образование токсина. Параллельно производились высевы детоксицированных спор на среду Шапошникова и Мантейфель. Оказалось, что на простых белках (альбуминах, глобулинах и пептоне) детоксицированные споры прорастают при условии высева их в больших количествах (1 000 на 100 см³ среды), причем образование токсина идет слабо; в то же время на среде Шапошникова и Мантейфель с растительным глобулином (из подсолнечника) прорастание спор ботулинуса и образование токсина происходят очень интенсивно, т. е. споры ботулинуса могут развиваться на неразложенных простых белках. Отмечено, что присутствие симбионтов — сенной палочки и кокков — не оказывает влияния на прорастание спор ботулинуса в испытанных средах.

Л. Осницкая

Steinhaus E. A. **Insect Microbiology** (Микробиология насекомых). Ithaca Comstock Publ. Co., pp. 763, 1946.

Микробиология насекомых является еще совершенно не изученным, новым отделом микробиологии. Малая изученность этой дисциплины объясняется ее промежуточным положением между микробиологией и энтомологией. В этой области трудно работать только микробиологу или только энтомологу: они должны работать вместе, или исследователь должен быть специалистом в обеих областях. Автором настоящей книги является как раз такой специалист Штейнхауз — профессор бактериологии Калифорнийского университета и одновременно специалист по патологии насекомых. Его книга является первой попыткой собрать воедино обширный и разрозненный материал, посвященный микроорганизмам, связанным в своем развитии с насекомыми. Автором использовано около 2 000 отдельных статей, посвященных этому вопросу. Сам Штейнхауз работал по выделению и изучению бактериальных симбионтов и паразитов насекомых.

На поверхности насекомых обычно находится случайная микрофлора, внутри же насекомых бактерии, связанные с ними. Они находятся главным образом в пищеварительном тракте, особенно в специальных его участках, которые, повидимому, приспособлены для обитания бактерий. Бактерии могут передаваться от поколения к поколению. Бактерии тесно связаны с насекомыми. Некоторые личинки не могут нормально развиваться в стерильных условиях. Особенное значение имеют целлюлозные бактерии для насекомых, питающихся клетчаткой. Однако вопрос о физиологических взаимоотношениях между бактериями и насекомыми только поставлен и почти совсем не разрешен. Автором впервые каталогизированы все бактерии, когда-либо выделенные из насекомых. Классификация дана по Бердже. Всего описано более 300 различных бак-

терий, принадлежащих почти ко всем бактериальным семействам, в том числе многие патогенные для человека, животных и растений. Эти бактерии или переносятся насекомыми, или находятся с ними в симбиотических взаимоотношениях, или же являются возбудителями заболеваний самих насекомых. Кроме бактерий, живущих в полостях тела насекомых, часто описываются бактерии, живущие внутри клеток. Эти бактерии встречаются у всех представителей некоторых видов насекомых. Часто они локализованы в специальном органе — мицетоне или в специальных клетках — мицетоцитах. Они не вызывают заболевания насекомых. Их роль совершенно не изучена. Особенностью этих бактерий является то, что их не удается выделить из насекомых и культивировать in vitro, как это удается с симбионтами растений — клубеньковыми бактериями. Их можно лишь наблюдать в гистологических препаратах, где они хорошо окрашиваются обыкновенными анилиновыми красками и могут быть как грамположительными, так и грамотрицательными. То обстоятельство, что их не удается культивировать на средах, заставляет некоторых авторов предполагать, что это не бактерии, а части клеток насекомого.

Кроме бактерий, внутри клеток насекомых иногда находятся рикетсии, мельчайшие организмы, плохо окрашивающиеся обычными бактериологическими красками. Они с трудом культивируются вне хозяина, их можно поддерживать лишь в культурах тканей. Так как многие рикетсии являются возбудителями заболеваний человека, они изучены более детально. Среди рикетсий есть симбионты насекомых, не вызывающие заболеваний, тесно связанные с насекомыми и передающиеся по наследству. Есть и паразиты, не связанные с насекомыми, паразитирующие как в насекомом, так и в животных. В книге собраны все имеющиеся данные о рикетсиях патогенных и непатогенных.

Дрожжи менее ассоциированы с насекомыми, чем бактерии. Насекомые являются переносчиками фитопатогенных дрожжей. Повидимому, есть дрожжи патогенные для насекомых. Кроме того, имеется много описаний этих организмов, находящихся внутри клеток насекомых. Несмотря на то, что описания очень детальны и на основании морфологических признаков дрожжи даже систематизируют, однако их присутствие не доказано, так как они не выделяются на питательных средах. Не исключено, что это части клеток насекомого.

Грибы для насекомых обычно являются паразитами. Некоторые представители всех 4 классов грибов — фикомицеты, аскомицеты, базидиомицеты и несовершенные грибы — связаны с насекомыми. Известны случаи и симбиотического сожительства грибов и насекомых. Особенно интересно сожительство некоторых древесных жуков с грибом, близким к Monilia. Насекомое культивирует гриб, который является пищей для личинок. Грибы культивируют и муравьи. Эти последние разводят специальные грибные плантации, заготовляя для грибов субстрат из листьев, и питаются грибами.

Среди насекомых широко распространены вирусные болезни. Хорошо изученным примером является желтуха шелковичных червей. Кроме того, насекомые являются переносчиками вирусных болезней человека и особенно растений.

Спирохетные заболевания человека и животных часто переносятся насекомыми. Между спирохетой и переносчиком имеются какие-то биологические взаимоотношения, но они далеко не выяснены. Часто в кишечнике насекомых находятся спирохеты, не вызывающие заболеваний ни животных, ни самого насекомого. Их значение для жизни насекомых совершенно не изучено

Громадное количество видов простейших связано с насекомыми. Они изучены протистологами лучше, чем изучены бактерии, связанные с насекомыми. Простейшие ассоциированы с отдельными представителями всех порядков насекомых. Во многих случаях они являются паразитами. Иногда насекомые являются промежуточными хозяевами паразитов позвоночных. Изучение протозойных заболеваний насекомых ведет свое начало с работы Пастера, который спас шелковую промышленность Франции от мора шелковичных червей, выведя иммунную расу. Особый интерес представляют симбиотические взаимоотношения между флагеллатами и термитами. Большинство семей термитов (но не все) имеет в кишечнике специфическую фауну, представленную 1—4 видами флагеллат. По всей видимости (имеется ряд экспериментальных данных), простейшие участвуют в пищеварении термитов, питающихся древесиной, помогая переваривать клетчатку.

Что касается иммунитета насекомых, то эта область лишь едва затронута исследованиями. Известно, что у насекомых действуют клеточный и гуморальный факторы. Насекомые могут приобретать иммунитет активно и пассивно. Ввиду отсутствия серологической микротехники ряд вопросов иммунитета насекомых пока не мог быть решен.

В заключение автор приводит ряд методических указаний для работы по микробиологии насекомых.

И. Работнова

СОДЕРЖАНИЕ

Андрей Александрович Жданов

Стр.

От Центрального Комитета Всесоюзной Коммунистической Партии (большевиков) и Совета Министров Союза ССР 325

Андрей Александрович Жданов 326

Центральному Комитету Всесоюзной Коммунистической Партии (большевиков) 328

За передовую Мичуринскую биологическую науку (Я. Раутенштейн) 329

Л. Д. Штурм. Морфологические и культуральные признаки факультативно-аэробных бактерий, восстанавливающих сульфаты 334

А. Е. Крисс. О природе бактериофага. V. Гипотеза о строении бактериофага 340

Т. В. Аристовская. О ферментативной активности северных рас микроорганизмов 350

М. Н. Родигин. О распространении Gloeosporium lagenarium (Pass.) Sacc. et Roum. воздушными течениями 355

Р. И. Пиковская. Мобилизация фосфатов в почве в связи с жизнедеятельностью некоторых видов микробов 362

Н. В. Крупин. Влияние грамицидина С на морфологию и физиологию микробов. III. Влияние грамицидина С на дыхание бактерий 371

А. П. Париевская. Вирусное заболевание декоративных растений (мозаичное заболевание Pelargonium sp.) 376

Н. И. Гамова-Каюкова и Т. М. Федорова. Proteus и распространение его в природе 380

Ю. М. Возняковская. Роль Clostridium Pasteurianum как фактора, повышающего эффективность бактеризации семян азотобактером 389

М. И. Гольдин. Специфичность вирусных нитевидных включений 395

В. А. Замков. Простое приспособление для флуоресцентной микроскопии . . 400

С. В. Горюнова. Культивирование водорослей в лабораторных условиях (Обзор) 402

Рефераты 409

Подписано к печати 19. X. 1948 г. А08889 Уч.-изд. л. 9,4

Тираж 3450 экз. Зак. 1321. 5½ печ. л.+2 вклейки

2-я типография Изд-ва Академии Наук СССР, Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.

ОТКРЫТА ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛЫ АКАДЕМИИ НАУК СССР НА 1949 ГОД

НАЗВАНИЕ ЖУРНАЛА	Колич. номеров в год	Подписная цена на год (в руб.)
Автоматика и телемеханика	6	45
Астрономический журнал	6	36
Биохимия	6	54
Ботанический журнал СССР	6	63
Вестник Академии Наук СССР	12	96
Вестник древней истории	4	120
Доклады Академии Наук СССР (без переплета)	36	360
Доклады Академии Наук СССР с 6-ю папками (коленкоровыми, с тиснением) для переплета		385
Журнал аналитической химии	6	36
Журнал экспериментальной и теоретической физики	12	108
Журнал физической химии	12	144
Журнал общей химии	12	180
Журнал общей биологии	6	45
Журнал прикладной химии	12	126
Журнал технической физики	12	144
Зоологический журнал	6	54
Записки Всесоюзного минералогического общества	4	30
Известия АН СССР, серия биологическая	6	72
Известия АН СССР, серия геологическая	6	90
Известия АН СССР, серия географическая и геофизическая	6	54
Известия АН СССР, серия истории и философии	6	54
Известия АН СССР, Отделение литературы и языка	6	54
Известия АН СССР, серия математическая	6	54
Известия АН СССР, Отделение технических наук	12	180
Известия АН СССР, серия физическая	6	72
Известия АН СССР, Отделение химических наук	6	63
Известия АН СССР, Отделение экономики и права	6	45
Известия Всесоюзного географического общества	6	63
Коллоидный журнал	6	45
Микробиология	6	54
Математический сборник	6	90
Почвоведение	12	72
Прикладная математика и механика	6	63
Природа	12	72
Советское государство и право	12	108
Советская этнография	4	90
Успехи современной биологии	6	60
Успехи химии	6	48
Физиологический журнал СССР имени Сеченова	6	72

Подписка принимается:

Во всех конторах «Союзпечати» и почтовых отделениях.

В магазинах «Академкнига»; в Москве — *Пушкинская, 23 и ул. Горького, 6;* в Ленинграде — *Литейный пр., 53-а;* в Свердловске — *ул. Малышева, 58;* в Ташкенте — *ул. Карла Маркса, 29;* в Киеве — *Б. Владимирская, 55.*